Biologia

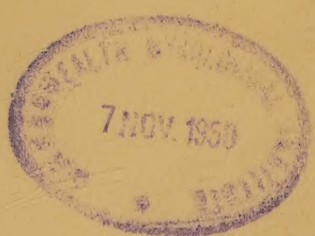
АКАДЕМИЯ НАУК СОЮЗА ССР

МИКРОБИОЛОГИЯ

ЖУРНАЛ ОБЩЕЙ, СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ
И ПРОМЫШЛЕННОЙ МИКРОБИОЛОГИИ

ТОМ XIX. ВЫП. 1

ЯНВАРЬ—ФЕВРАЛЬ



ИЗДАТЕЛЬСТВО АКАДЕМИИ НАУК СССР
МОСКВА

1950

МИКРОБИОЛОГИЯ

Редактор чл.-корр. АН СССР А. А. Имшенецкий

Секретарь Я. И. Раутенштейн

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

А. Ф. Войткевич, Н. Д. Иерусалимский, Н. А. Красильников, В. Н. Шапошников

ПО ВСЕМ ВОПРОСАМ ПОДПИСКИ НА ЖУРНАЛ „МИКРОБИОЛОГИЯ" ОБРАЩАТЬСЯ ПО АДРЕСУ: МОСКВА, Б. ЧЕРКАССКИЙ ПЕР., 2, КОНТОРА „АКАДЕМКНИГА".

Рукописи направлять по адресу:
Москва, Волхонка, 14, Издательство Академии Наук СССР,
редакция журнала «Микробиология»

АКАДЕМИЯ НАУК СОЮЗА ССР

МИКРОБИОЛОГИЯ

ЖУРНАЛ ОБЩЕЙ, СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ
И ПРОМЫШЛЕННОЙ МИКРОБИОЛОГИИ

ТОМ XIX

ИЗДАТЕЛЬСТВО АКАДЕМИИ НАУК СССР
МОСКВА

1950

И. Сталин.

СОВЕТСКАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ В ГОДЫ СТАЛИНСКИХ ПЯТИЛЕТОК

Я не сомневаюсь, что если окажем должную помощь нашим ученым, они сумеют не только догнать, но и превзойти в ближайшее время достижения науки за пределами нашей страны.

И. В. Сталин

Микробиология — сравнительно молодая отрасль биологической науки. Возникновение и развитие микробиологии, как и всех остальных наук, тесно связаны с производством, с потребностями человеческого общества.

Необычайно широкое распространение микроорганизмов, исключительно важное значение, которое имеют вызываемые ими процессы, способствовали развитию микробиологии и дифференцировке этой науки на ряд самостоятельных дисциплин (общая, сельскохозяйственная, техническая, водная, медицинская, ветеринарная микробиология).

Нашей отечественной науке бесспорно принадлежит заслуга постановки и успешной разработки ряда кардинальной важности вопросов, способствовавших прогрессу микробиологии.

Еще в дореволюционный период русские ученые внесли существенный вклад во все отрасли микробиологии и своими открытиями довольно часто опережали современную им науку.

Здесь следует отметить выдающиеся исследования Л. С. Ценковского о циклах развития микроорганизмов, о низших водорослях и инфузориях и его работы в области борьбы с сибирской язвой. Л. С. Ценковского, как выдающегося биолога своего времени характеризует то, что еще до появления «Происхождения видов» Дарвина он в своих лекциях и выступлениях развивал эволюционные идеи в биологии. М. С. Воронин впервые показал, что клубеньки, наблюдаемые в корнях бобовых растений, вызываются особыми микроорганизмами, и ему по праву принадлежит приоритет открытия клубеньковых бактерий. Д. И. Ивановский в 1892 г. открыл фильтрующиеся вирусы у растений и заложил основы новой науки — учения о вирусах.

В. А. Манассеин и А. Г. Полотебнов еще в прошлом столетии впервые показали, что в результате роста гриба Penicillium питательная среда приобретает свойство угнетать развитие других организмов, так как Penicillium обладает бактерицидным действием, и доказали возможность использования этого явления для лечебных целей.

Исследования выдающегося русского ученого И. И. Мечникова составили целую эпоху в развитии микробиологии.

Основоположником экологического метода в микробиологии является С. Н. Виноградский. Широкое применение разработанного им метода элективных сред явилось важным переломным этапом в развитии микробиологии, так как открыло перед исследователями возможности изучения многообразных и сложных процессов, вызываемых микроорганизмами. Классические работы С. Н. Виноградского о процессе нитрификации впервые внесли ясность в этот сложный и никем до него не изученный процесс.

Развитие отечественной микробиологии тесно связано с именем крупнейшего русского микробиолога В. Л. Омелянского, получившего широкую известность своими оригинальными работами в области изучения

пектинового и целлюлозного брожения, а также исследованиями по морфологии и биохимизму азотфиксирующих бактерий и другими работами.

Количество этих примеров можно значительно увеличить.

Но все это были труды выдающихся одиночек, не нашедших в условиях дореволюционной России возможностей для полного расцвета их талантов.

Победа Великой Октябрьской социалистической революции в России, осуществленная рабочим классом под руководством гениальных вождей В. И. Ленина и И. В. Сталина, знаменовала собою новую эру в истории человечества, в истории науки.

Только в условиях советской действительности открылись блестящие перспективы для развития науки, в частности микробиологии, и на смену ученым-одиночкам дореволюционной России пришла целая армия советских ученых.

Социалистический общественный строй создал все условия для неограниченного развития науки и ее применения в практической борьбе за построение коммунизма.

Великие вожди большевистской партии и советского народа В. И. Ленин и И. В. Сталин всегда уделяли огромное внимание науке и нашим ученым и создали им все условия для плодотворной работы.

Основатели Советского государства Ленин и Сталин — величайшие гении и корифеи передовой науки — обогатили и двинули далеко вперед марксизм применительно к новым условиям развития общества, открыли закономерности этого развития в новую эпоху — эпоху империализма и социалистических революций, создали учение о победе социализма первоначально в одной отдельно взятой стране.

Победа социализма в нашей стране создала условия для ломки всех закоренелых предрассудков буржуазной науки и открыла перед советскими учеными небывалые перспективы для творческой деятельности.

Величайший теоретик марксизма-ленинизма товарищ Сталин в своих работах обобщил все то, что внесли Маркс, Энгельс и Ленин в учение о диалектическом материализме, развил дальше это учение на основе новейших данных современной науки и опыта революционной борьбы. Работами товарища Сталина диалектический материализм поднят на новую, высшую ступень.

Своим учением товарищ Сталин вооружил наших ученых и весь советский народ могучим идейным оружием, на основе которого предоставляется широчайшая возможность все глубже и глубже вникать в тайны природы и переделывать природу на благо человечества.

Партия Ленина — Сталина неустанно помогает нашим ученым овладевать высотами научного мировоззрения — диалектическим материализмом.

С первых же дней возникновения марксизма идеологи буржуазии твердят, что социализм якобы приведет к общественному застою. Еще в августе 1917 г., до победы Великой Октябрьской социалистической революции Ленин писал: «...Важно выяснить себе, как бесконечно лживо обычное буржуазное представление, будто социализм есть нечто мертвое, застывшее, раз навсегда данное, тогда как на самом деле только с социализма начнется быстрое, настоящее, действительно массовое, при участии большинства населения, а затем всего населения, происходящее движение вперед во всех областях общественной и личной жизни». («Государство и революция». Соч., т. 21, стр. 439, изд. 3).

Победа социализма в нашей стране, успешное продвижение к коммунизму, расцвет советской культуры и науки полностью подтверждают эти пророческие слова.

В 1925 г. товарищ Сталин в своем обращении к пролетарскому студенчеству писал: «Я думаю, что наша страна с ее революционными навыками и традициями, с ее борьбой против косности и застоя мысли,

представляет наиболее благоприятную обстановку для расцвета наук». (Соч., т. 7, стр. 88).

С тех пор, как товарищем Сталиным сказаны эти пророческие слова, прошло четверть века, и мы воочию видим, что это гениальное предвидение осуществилось в нашей стране, которая стала цитаделью и рассадником передовой науки.

Советская наука — детище нашего социалистического государства — выросла и окрепла на великих идеях Ленина и Сталина. Руководящие идеи товарища Сталина сыграли решающую роль в победе передовой мичуринской биологии над идеалистическим реакционным течением в биологии — вейсманизмом-морганизмом, открыв этим для советских биологов новые широкие перспективы в их научной и практической работе.

Сталинское учение о единстве теории и практики, науки и практической деятельности служат для советских ученых путеводной звездой в деле успешного познания природы, в деле покорения природы человеком.

Ученые нашей страны вместе с миллионами тружеников социалистического сельского хозяйства, благодаря неустанным заботам и усилиям коммунистической партии и нашего великого вождя И. В. Сталина, успешно претворяют в жизнь девиз И. В. Мичурина: «Мы не можем ждать милостей от природы, взять их — наша задача». Это находит свое практическое осуществление в успешно выполняемом советским народом великом Сталинском плане преобразования природы степных и лесостепных районов нашей страны. Впервые в истории человечества наука стала у нас достоянием народных масс и верно служит народу в его борьбе за коммунизм.

Характерной особенностью переживаемого нами периода является то, что науку у нас двигают вперед не только люди науки, но что с большим успехом у нас это делают также и люди практики. Герои социалистического труда, мастера высоких урожаев и высокой продуктивности животноводства накопили громадный опыт, который служит основой для новых открытий в области биологии, агрономии и других наук. Поэтому у нас стало обычным явлением, что передовые люди промышленности и сельского хозяйства участвуют в работах научно-исследовательских институтов, читают лекции в высших учебных заведениях, выступают с научными докладами.

Диалектический материализм ясно и точно определяет цели и задачи науки и указывает единственно правильные пути к разрешению задач познания законов природы и общества.

Товарищ Сталин учит: «...Жизнь нужно рассматривать именно такой, какова она в действительности». «...Жизнь находится в непрестанном движении, следовательно, мы должны рассматривать жизнь в ее движении и ставить вопрос: куда идет жизнь»? «То, что в жизни рождается и изо дня в день растет,— неодолимо, остановить его движение вперед невозможно» (Соч., т. 1, стр. 298). Эти сталинские указания позволяют познать объективные закономерности природы с тем, чтобы активно изменять ее соответственно нашим целям.

Творческое мичуринское учение, основанное на методах диалектического материализма, открыло законы сознательного управления развитием организмов. Работы И. В. Мичурина, Т. Д. Лысенко и их последователей показали, что условия жизни являются определяющими причинами изменения наследственности организмов и что изменения условий жизни ведут к изменениям типа развития, а видоизмененный тип развития влечет и изменения наследственности.

В результате осуществления сталинских пятилеток индустриализации страны и коллективизации сельского хозяйства наша Родина превратилась в передовую и могучую индустриальную державу, в страну самого передового в мире социалистического сельского хозяйства, в страну самой передовой культуры и науки.

Передовая советская наука, а вместе с ней и советская микробиология, росла и развивалась вместе с ростом и развитием нашей социалистической промышленности, колхозного и совхозного производства и советского здравоохранения.

Наш великий вождь и учитель товарищ Сталин неустанно учит весь наш народ, каким должен быть творческий труд, каким должен быть советский ученый. Он неоднократно призывал советских ученых развивать передовую науку, т. е. ту науку, «которая не отгораживается от народа, не держит себя вдали от народа, а готова служить народу, готова передать народу все завоевания науки, которая обслуживает народ не по принуждению, а добровольно, с охотой».

Партия Ленина — Сталина учила советских ученых, что наука, оторванная от практики, неизбежно хиреет, вырождается.

Для советских ученых путеводными являются указания товарища Сталина: «Наука, порвавшая связи с практикой, с опытом,— какая же это наука?» «... наука потому и называется наукой, что она не признает фетишей, не боится поднять руку на отживающее, старое и чутко прислушивается к голосу опыта, практики».

Руководствуясь идеями товарища Сталина, советские микробиологи добились существенных успехов. Какую отрасль микробиологии не возьмем, всюду находим мы значительные достижения советских микробиологов. До Октябрьской революции у нас в стране были более или менее широко представлены только медицинская и ветеринарная микробиология. Такие важные отрасли микробиологии, как техническая и сельскохозяйственная, были представлены несколькими небольшими лабораториями.

Техническая микробиология особое развитие получила у нас в годы осуществления сталинских пятилеток. Существенный вклад в дело развития нашей бродильной промышленности внесли исследования советских ученых по овладению процессами обмена веществ у микроорганизмов с целью управления этими процессами для получения необходимых продуктов. Из работ этого направления необходимо указать на исследования С. Л. Иванова, А. П. Лебедева, С. П. Костычева, В. В. Первозванского и их учеников по изучению биохимической сущности превращения веществ при спиртовом брожении, а также на работы В. П. Палладина и С. П. Костычева по выяснению взаимосвязи между брожением и дыханием.

Работы В. С. Буткевича и С. П. Костычева и их учеников по изучению химизма образования органических кислот привели к возможности создания отечественного производства лимонной кислоты.

Работы В. Н. Шапошникова, Н. Д. Иерусалимского, А. Я. Мантейфель и др. по изучению уксуснокислых, молочнокислых и ацетоновых бактерий и по выяснению химизма вызываемых этими организмами брожений привели к возможности научной организации производства уксусной и молочной кислот, ацетона и бутилового спирта. Благодаря этим исследованиям возникли ранее отсутствовавшие у нас в стране производства ацетона и бутилового спирта и др.

Советские биохимики: А. Н. Бах, А. И. Опарин, А. Л. Курсанов, Н. М. Сисакян и их многочисленные ученики своими теоретическими исследованиями в области изучения химизма ферментационных процессов внесли существенный вклад в дело коренной реконструкции ряда отраслей пищевой промышленности (хлебопечение, виноделие и др.), где долгое время господствовала кустарщина и эмпиризм.

В области изучения микробиологии молока и молочных продуктов особое значение имеют капитальные труды А. С. Королева, А. Ф. Войткевича и их учеников, посвященные детальному изучению процессов, происходящих на всех этапах переработки молока в различные продукты.

В деле научной организации производства пекарских и кормовых

дрожжей существенную роль сыграли работы А. И. Островского, Р. Б. Гивартовского, Е. А. Плевако и др.

Успехи в развитии советского виноделия и производства спирта связаны с трудами Н. Н. Простосердова, М. А. Герасимова, А. П. Ситникова, В. Г. Таирова, А. М. Фролова-Багреева и др.

Исследования Я. Я. Никитинского, Б. С. Алеева, Ф. М. Чистякова и других как в области микробиологии пищевого сырья, так и в области микробиологии технологических процессов при переработке сырья и при хранении и транспортировке пищевых продуктов явились весьма ценными для созданной сталинскими пятилетками на новых началах советской пищевой промышленности, в частности консервной.

Роль микроорганизмов в мацерации волокнистых растений детально освещена в работах Г. Л. Селибера и И. А. Макринова.

Ценные данные об образовании и разложении жиров микроорганизмами приведены в трудах Г. Л. Селибера.

Создание специальных кафедр по технической микробиологии значительно способствовало подготовке квалифицированных кадров для промышленности.

В создании и развитии науки о почве приоритет отечественных ученых общепризнан. Труды великих русских ученых Докучаева — Костычева — Вильямса легли в основу науки о почве. Советский период развития науки о почве связан с именем выдающегося нашего ученого В. Р. Вильямса, который создал новое биологическое направление в учении о почве. В. Р. Вильямс установил, что решающим фактором почвообразования является жизнедеятельность растений и микроорганизмов.

Система землепользования, известная под названием комплекса Докучаева — Костычева — Вильямса, включает целый ряд научно-обоснованных мероприятий, ведущих к беспрерывному повышению плодородия почвы.

Для развития почвенной микробиологии особое значение имеют указания В. Р. Вильямса о природе и условиях образования и разрушения перегнойных веществ почвы и о роли микроорганизмов в корневом питании растений.

Одной из важнейших задач, стоящих перед советскими микробиологами, работающими в области сельскохозяйственной микробиологии, является обеспечение дальнейшего плодотворного развития прогрессивного учения В. Р. Вильямса.

За годы советской власти сельскохозяйственная микробиология, благодаря заботам партии и правительства, получила значительное развитие. Как и техническая микробиология, она только за советский период оформилась у нас в стране как самостоятельная отрасль микробиологии с сетью специальных научно-исследовательских институтов и лабораторий и кафедр при высших сельскохозяйственных учебных учреждениях.

Нужно отметить, что советскими учеными внесен существенный вклад в дело развития сельскохозяйственной микробиологии.

Работы М. В. Федорова по механизму фиксации азота атмосферы азотобактером внесли много принципиально нового в дело изучения этого процесса.

Важное значение для почвенной микробиологии имели исследования советских ученых К. И. Рудакова, Е. Н. Мишустина, М. П. Корсаковой и др. по превращению фосфора, алюмосиликатов и других веществ в почве.

Исследования В. П. Израильского, Н. А. Красильникова, В. В. Бернарда и других ученых в области изучения морфологии, физиологии клубеньковых бактерий и взаимоотношений этих бактерий с бобовыми и небобовыми растениями значительно содействовали расширению наших знаний об этой важной группе микроорганизмов и использованию их в целях повышения урожайности.

Исследования Н. Н. Худякова, Н. А. Красильникова, Е. Н. Мишустина, К. И. Рудакова, Д. М. Новогрудского, А. К. Паносян, А. М. Шелоумовой, Н. М. Лазарева и многих других советских микробиологов о роли микроорганизмов в плодородии почвы, в оструктуривании почв, о взаимоотношениях между почвенными микроорганизмами и высшими растениями в значительной степени содействовали развитию отечественной сельскохозяйственной микробиологии.

Советскими учеными разработаны методы определения потребности почвы в удобрениях (В. С. Буткевич, А. П. Крючкова) и теория частичной стерилизации почвы (Е. Н. Мишустин).

Советскими учеными М. В. Горленко, В. И. Взоровым, В. П. Израильским и др. внесено много нового и ценного в дело изучения бактериозов растений.

Существенный вклад в советскую и мировую науку внесли работы советских микробиологов Б. Л. Исаченко, В. С. Буткевича и др. по выяснению роли микроорганизмов в круговороте веществ в природе, а также работы в области изучения микрофлоры арктических морей. Микробиология грязей и лиманов получила широкое освещение в трудах Б. Л. Исаченко, Л. И. Рубенчика и др. Работы советских ученых Н. Д. Зелинского, Б. Л. Исаченко, А. Е. Крисса и других вскрыли основные закономерности образования сероводорода в Черном море.

Исследования Я. Я. Никитинского, С. И. Кузнецова, А. С. Разумова и др. внесли много ценного в познание микробиологических процессов, происходящих в пресных водоемах.

Роль микроорганизмов в разложении углеводородов, в том числе и нефтей с большой полнотой освещена в работах В. О. Таусона, В. С. Буткевича, Т. Л. Гинзбург-Карагичевой, Л. Д. Штурм и др., заложивших принципиальные основы микробиологических методов разведки на нефть.

Из работ советских ученых, имеющих большое теоретическое значение, необходимо отметить фундаментальную работу А. А. Имшенецкого о строении клеток бактерий, исследования А. М. Кирхенштейна о структуре и развитии бактерий, работы Н. А. Красильникова, А. А. Имшенецкого, В. И. Кудрявцева и многих других, которые на большом фактическом материале доказали ненаучность и несостоятельность антиэволюционной теории циклогенетистов, работы Е. Н. Мишустина в области географической изменчивости микроорганизмов, а также его исследования по биологии и распространению в природе термофильных бактерий.

Особое значение имели труды Н. Ф. Гамалея в области общей микробиологии. Его работы по изменчивости микробов являются одними из первых опытов получения измененных форм микроорганизмов. Особого внимания заслуживают работы Н. Ф. Гамалея и его ближайших сотрудников по направленному изменению наследственных свойств микроорганизмов.

Работы А. Н. Белозерского по изучению химического состава микробной клетки вскрыли ряд новых и интересных сторон в вопросе о нуклеопротеидах микробов.

Большое внимание уделялось советскими микробиологами пересмотру существующей систематики микроорганизмов с целью приближения ее к естественной классификации. Много принципиально нового и ценного внесено Н. А. Красильниковым в систематику актиномицетов и других микроорганизмов, А. А. Имшенецким в систематику миксобактерий, Л. И. Курсановым в систематику низших растений и В. И. Кудрявцевым в систематику споровых дрожжей. Н. Г. Холодным детально изучена группа железобактерий и даны новые методы исследования в почвенной микробиологии.

Исследования М. Н. Мейселя и его сотрудников по цитологии дрожжевых клеток, функциональной морфологии микробных клеток и по влиянию на строение и жизнеспособность дрожжевых организмов вита-

минов и близких к ним веществ значительно способствовали пониманию этой до сих пор слабо изученной области микробиологии и открыли возможность практического использования микроорганизмов как чутких индикаторов на витамины.

Явление бактериофагии всегда привлекало к себе широкое внимание советских микробиологов. Необходимо отметить, что явление бактериофагии впервые открыл Н. Ф. Гамалея, который пытался химическими методами выделить агента, вызывающего лизис.

Многочисленные работы советских ученых в области бактериофагии посвящены вопросам природы фага, методам его приготовления и очистки и практическому использованию. Всестороннее освещение этого вопроса мы находим в работах Н. Н. Жукова-Вережникова, А. Е. Крисса, З. В. Ермольевой, В. И. Клейна, В. А. Крестовниковой, Ф. Е. Сергиенко и многих других.

Явление лизиса у актиномицетов впервые описано в трудах С. Ф. Дмитриева и его сотрудников.

Работы русских и советских ученых сыграли важную роль в вопросе изучения антибиотических свойств микроорганизмов. Как указывалось выше, Манассеин и Полотебнов еще в прошлом столетии обратили внимание на антибиотические свойства грибка пенициллa. Работы великого русского ученого И. И. Мечникова об антагонизме между разными видами микроорганизмов явились крупнейшим открытием и вписали новую яркую страницу в историю биологии.

Значительное влияние на разработку вопроса об антибиотических веществах микроорганизмов сыграли работы Н. Ф. Гамалея о биологических причинах разрушения бактерий и его объяснения механизма лизиса и антагонистических взаимоотношений между микробами.

Нельзя не отметить то большое значение, которое сыграли работы советских ученых в области открытия и изучения так называемых миколитических бактерий. Исследования Я. П. Худякова, Д. М. Новогрудского, Е. Ф. Березовой, М. И. Нахимовской, А. Н. Наумовой, Е. А. Разницыной и др. показали широкое распространение этих бактерий, вскрыли действие их на другие почвенные организмы, в том числе и на фитопатогенные грибки и показали пути возможного использования этих бактерий для борьбы с некоторыми грибковыми заболеваниями.

Существенный вклад в советскую биологическую науку внесли своими работами в области фитонцидов Б. П. Токин и его сотрудники. Б. П. Токину принадлежит не только заслуга открытия фитонцидов. Им показано биологическое значение фитонцидов как одного из важнейших факторов естественного иммунитета растений.

Немало нового внесли советские ученые в вопрос изучения антагонистических взаимоотношений между микроорганизмами. Им принадлежит приоритет в открытии ряда новых антибиотических веществ (Г. Ф. Гаузе, М. Г. Бражникова, Н. А. Красильников, Л. М. Якобсон и др.). Многочисленные и разносторонние исследования советских ученых в деле изучения антагонизма между микробами и использования этого явления в практике здравоохранения значительно обогатили советскую и мировую науку, сыграли важную роль в деле получения антибиотических препаратов.

Выдающееся открытие фильтрующихся вирусов растений русским ученым Д. И. Ивановским заложило фундамент нового учения о вирусах.

Советские ученые успешно продолжали разработку учения Д. И. Ивановского. Как в области изучения вирусов растений, так и в области изучения вирусов человека и животных советскими учеными внесено много нового, ценного.

В связи с изучением природы вирусов растений и разработкой мер борьбы с ними можно отметить работы В. Л. Рыжкова, К. С. Сухова, М. С. Дунина, И. К. Корачевского и др. Велики достижения советской медицинской и ветеринарной микробиологии. Великая Отечественная

война явилась серьезным испытанием для советской науки, в том числе и для микробиологии. Она поставила перед советскими микробиологами, в особенности перед работниками медицинской и ветеринарной микробиологии, ряд сложных и разнообразных задач. Советские микробиологи с честью выполнили свой долг перед Родиной. Результатом их самоотверженной работы явилась прекрасная постановка советской военной медицины, успешное предохранение фронта и тыла от инфекций и эпидемий.

Среди лауреатов Сталинских премий мы находим многих наших ученых — академика Е. Н. Павловского, академика ВАСХНИЛ С. Н. Муромцева, М. В. Федорова, М. С. Дунина, Р. Б. Гивартовского, Е. А. Плевако, Г. Ф. Гаузе и большое количество ведущих медицинских микробиологов, удостоенных этой высокой награды за свои открытия и изобретения в области микробиологии и вирусологии.

Мы перечислили только небольшую долю тех успехов, которыми может гордиться наша микробиология. Но уже из этого наглядно видно насколько серьезны те достижения, которых добилась микробиология.

Следует отметить, что успехам отечественной микробиологии в значительной мере способствовали достижения советских ученых и во всех других областях науки. Так, например, достижения наших физиков и техников (академиков И. В. Гребенщикова и Д. С. Рождественского и др.) обеспечили создание у нас собственной оптической промышленности, от уровня развития которой в значительной степени зависят успехи микробиологии.

Благодаря работам, проведенным под руководством академика С. И. Вавилова, были созданы отечественные конструкции для люминесцентной микроскопии и оригинальный ультрафиолетовый абсорбционный микроскоп (Е. М. Брумберг). Академик В. П. Линник создал микроинтерферометр, предвосхитив тем самым фазовоконтрастную микроскопическую технику.

За последние годы академиком А. А. Лебедевым и В. Н. Верцнер разработаны и осуществлены оригинальные конструкции советского электронного микроскопа.

Наша социалистическая промышленность обеспечила научно-исследовательские учреждения самой современной аппаратурой и оборудованием. Однако все эти успехи представляют собою только первые шаги к решению тех грандиозных задач, которые поставлены перед советской наукой в период перехода от социализма к коммунизму.

Всеми своими успехами советская микробиология обязана нашему социалистическому строю и неустанным заботам большевистской партии и великого нашего вождя и учителя И. В. Сталина, направившего развитие нашей науки по единственно правильному пути. Только на основе победившего социализма могла сложиться и окрепнуть глубокая неразрывная общность интересов всех групп советского общества — рабочих, крестьян и интеллигенции. Советские ученые теснейшим образом сблизились с народом, воспринимают задачи социалистического строительства как свое кровное дело и вкладывают в это дело все свои силы, всю свою творческую инициативу.

Советские ученые бесконечно благодарны большевистской партии и любимому своему вождю, другу и учителю И. В. Сталину за неустанную заботу о советской науке и советских ученых.

Как истинные патриоты своей Родины, воспитанные в духе пролетарского интернационализма, советские ученые вместе со всем советским народом, под руководством партии Ленина — Сталина и своего великого вождя И. В. Сталина и впредь будут отдавать все свои силы и знания на быстрейшее осуществление строительства коммунистического общества.

УЧЕНИЕ ДОКУЧАЕВА — КОСТЫЧЕВА — ВИЛЬЯМСА О ПОЧВЕ И ВОПРОС О СОСТАВЕ МИКРООРГАНИЗМОВ В РАСТИТЕЛЬНЫХ ФОРМАЦИЯХ

Е. Н. Мишустин

Введение

Почвоведение как наука оформилось благодаря классическим трудам Докучаева [4, 5]. Историческая заслуга Докучаева состоит в том, что он создал учение о почве как об особом естественно-историческом теле, развивающемся под совместным влиянием ряда природных факторов. «До Докучаева почвоведение было эмпирической наукой; в результате трудов Докучаева оно стало широкой естественно-научной дисциплиной» (Вильямс [3]).

«Почвой следует называть „дневные" или наружные горизонты горных пород (все равно каких), естественно измененные совместным влиянием воды, воздуха и разного рода организмов, живых и мертвых»,— вот общеизвестное определение почвы, данное Докучаевым.

Докучаев ясно представлял себе роль почвы в природе и жизни человеческого общества и считал, что почва является центром или «зеркалом» других явлений живой и мертвой природы. В силу отмеченного почвоведение должно занимать, по его мнению, центральное место среди важнейших отделов естествознания, сближая и связывая их.

У Докучаева понимание почвы было весьма близко к агрономическому ее определению, но лишь Вильямс, развивая учение Докучаева, ввел в данную выше характеристику почвы существенное дополнение, указав, что понятие почвы включает способность ее производить урожай. «Когда мы говорим о почве, мы подразумеваем рыхлый поверхностный горизонт суши земного шара, способный производить урожай растений. Понятия о почве и ее плодородии неразделимы...» «Понятие о плодородии почвы мы противопоставляем понятию о бесплодном камне, или, другими словами, понятию о массивной горной породе» (Вильямс).

Вместе с тем Вильямс подчеркивал, что было бы верхом ненаучности рассматривать плодородие как неизменное свойство почвы. «Плодородие представляет процесс, непрерывно протекающий в почве, который поддается активному воздействию человека».

Только что отмеченное нами положение подчеркивается и другим крупнейшим авторитетом в области почвоведения — Прасоловым [22], который пишет: «Генезис почвы определяет ее место в классификации почв и дает основу для определения ее производственных качеств».

Факторы, совместно изменяющие горную породу, сводятся Докучаевым к пяти комплексам: 1) материнской породе, 2) климату, 3) растительности, 4) рельефу страны и 5) ее возрасту.

Касаясь значимости отдельных факторов почвообразования, Докучаев говорит: «...совершенно бесполезно задаваться вопросом о том, какой именно из почвообразователей играл наиважнейшую роль в истории образования почвы. Каждый из них в отдельности одинаково важен».

Отмечая точку зрения Докучаева, Вильямс писал: «После того как набросана эта программа изучения совместного влияния пяти основных элементов почвообразования в общем аспекте развития или возраста,

всякую попытку свести изучение происхождения почвы к преобладающему влиянию одного какого-либо элемента, при сохранении в стационарном состоянии современных условий залегания почвы, нельзя не рассматривать как шаг назад...»

Высказывания классиков почвоведения, конечно, не надо понимать в том смысле, что нельзя и не следует изучать роль того или иного фактора в формировании почвы как естественно-исторического тела. В частности, в настоящем обзоре мы стремимся оттенить роль растительности в почвообразовании и связать принципиальные положения учения Докучаева — Вильямса о почве с некоторыми новыми данными, полученными нами при изучении почвенной микрофлоры.

Следует подчеркнуть, что, по учению Вильямса, почва является функцией растений, определившейся на рухляковой породе.

Колоссальная роль живых организмов в формировании почвы была в свое время отмечена гениальным русским ученым Ломоносовым [18]. Сущность почвообразовательного процесса ему представлялась как процесс взаимодействия растительности с горными породами, протекающий во времени и сопровождающийся накоплением плодородия почвы. Таким образом, уже для Ломоносова почва была не корой выветривания геологов, а только верхним слоем последней, имеющим существенное значение для жизни растений. Отсюда видно, что представления Ломоносова на многие десятки лет опередили зарубежную науку о почве.

Наземной растительности в образовании почвы Докучаев отводил исключительно большую роль. Так, им было доказано, что чернозем не может образоваться под лесом, а только под степью.

Анализируя мнение Рупрехта, Докучаев подчеркнул, что чернозем формируется не только на лессовых отложениях, но на любой коренной породе, занятой степной растительностью. Влияние климата сводится к влиянию его на характер растительности, прирост растительной массы и распад ее остатков. Таким образом, климат участвует в почвообразовании главным образом через посредство растений.

Вместе с тем под влиянием растительности климат страны, как указывает Вильямс, может изменяться, даже в том случае, если сумма ежегодно притекающих элементов его остается неизменной.

Все классификации почв до Докучаева (геолого-петрографические, химические, физические и т. д.) давали характеристику почвам без связи с основными условиями произрастания на них растительности. В силу этого они были непригодны для сельского хозяйства.

Докучаевское почвоведение, наоборот, установило, какие почвы образуются в разных для произрастания растений условиях. В основу своей классификации почв Докучаев положил выяснение тех признаков, которыми характеризуются почвы, покрытые определенными видами растительности. Существенное значение при этом имели морфологические признаки, образовавшиеся именно в результате воздействия на почву растительности. Это сделало классификацию почв Докучаева близкой запросам практики. Надо отметить, что под морфологией почвы Докучаев понимал внешнее проявление внутренних процессов почвы.

Говоря о заслугах Докучаева, в одной из своих работ Сукачев [24] пишет, что докучаевское генетическое почвоведение дало основу для научного развития фитоценологии.

Деятельности почвенных микроорганизмов Докучаев придавал большое значение. Ему принадлежат настойчивые попытки организации при высших учебных заведениях курса микробиологии, которые в условиях царского времени оказались безрезультатными.

По вопросу о генезисе почвы к взглядам Докучаева весьма близки представления крупнейшего нашего почвоведа Костычева [9, 10, 11, 12]. В своей работе «Почвы черноземной области России» (1886) он писал:

«Геология... имеет второстепенное значение в вопросе о черноземе, потому, что накопление органического вещества происходит в верхних слоях земли геологически разнообразных и чернозем является вопросом географии и физиологии высших растений, и вопросом физиологии растений низших, производящих разложение органических веществ».

Костычев подчеркивал, что на почвообразующих породах, нередко в одних и тех же климатических условиях, под влиянием различных растительных формаций образуются неодинаковые по своим свойствам почвы.

Костычев первый выдвинул положение о том, что перегной является продуктом жизнедеятельности микроорганизмов,— положение, которое Вильямсом было развито в стройную теорию о роли разных групп микроорганизмов в образовании гумуса. Костычев писал: «Перегной представляет собой не мертвую массу, но в каждой точке дышит жизнью в разнообразных ее проявлениях: в нем происходят не только процессы разложения сложных органических соединений, но вместе с тем и процессы образования сложных соединений из простейших».

Таким образом, Костычевым были сделаны весьма четкие высказывания о наличии определенной связи между накоплением перегноя и характером растительности, условиями ее произрастания и разложением органических веществ в почве.

Глубокое познание почвы дало возможность Костычеву вскрыть причины утраты черноземами их плодородия и наметить пути к его повышению.

Вильямс более подробно, чем кто-либо, развил биологическую сторону почвообразования. Он разработал учение о растительных формациях в аспекте почвоведения, считая, что известные группировки высших зеленых и низших бесхлорофилльных растений свойственны различным периодам единого почвообразовательного процесса (см. ниже).

В учении Вильямса, правда в общей форме, были отмечены группы микроорганизмов, развивающиеся сопряженно с определенной высшей растительностью.

Высказывания Вильямса должны служить программой дальнейших работ микробиологов, на обязанности которых лежит более подробное выяснение компонентов ценоза микроорганизмов различных почв и выявление роли отдельных их представителей в превращениях органического вещества почвы, сводящегося как к процессам минерализации, так и к созданию перегнойных веществ почвы.

Сущностью почвообразовательного процесса Вильямс считал синтез и разрушение органического вещества. «С точки зрения почвоведения жизнь есть беспрерывная смена процессов создания и разрушения органического вещества». «Почвообразование представляет один из следов этого беспрерывного процесса эволюции жизни на земной поверхности. Это один общий, грандиозный по масштабу и продолжительности процесс». Приведенные выдержки из работ Вильямса достаточно красочно показывают, что совершенно последовательно весь химизм почвы он склонен был рассматривать как функцию органического вещества, частью мертвого, частью охваченного деятельной и напряженной жизнью.

Сообщества интересующих нас в настоящей работе сапрофитных микроорганизмов почвы должны определяться не только составом высших растений, доставляющих низшим существам питание, но и рядом других, отмеченных выше, факторов. Среди последних большую роль может играть напряженность тепловых усилий и количество влаги, в значительной мере влияющих на деструктивные и синтетические процессы. Докучаев придавал климатическому фактору в почвообразовании большую роль. Вильямс подчеркивал, что при переходе с севера на юг возрастает напряженность притока солнечного света и тепла, отчего увеличивается суммарное проявление биологических процессов. Однако если

на севере критическим моментом для жизни является низкая температура, то на юге предел жизни кладет засуха.

По теории Вильямса, современные зональные типы почв представляют собой конкретные формы проявлений различных периодов и стадий единого почвообразовательного процесса. Эволюция почв во времени, по мере сокращения ледникового покрова, шла последовательно, начиная с юга на север от тундровых почв через дерново-подзолистые и черноземные почвы к почвам сухих областей (каштановым почвам, буроземам и т. д.).

Таким образом, почвам различных типов свойственен неодинаковый возраст, и их свойства в значительной мере определяются энергией биологических процессов. Ряд моментов, на которых мы здесь не останавливаемся, может осложнить обрисованную схему чередования периодов почвообразования.

Все изложенное выше свидетельствует о том, что природа органических веществ различных по типу почв должна существенно отличаться в силу поступления в них различных органических остатков и быстроты их превращения, а также от влияния ряда других, уже отмечавшихся выше, факторов. Этот момент был указан Вильямсом, отметившим особенности перегнойных соединений, образующихся под различными растительными формациями.

Работы Тюрина [25] и Кононовой [7] значительно углубили наши представления о характере перегнойных веществ различных почв.

Процессы превращения органических соединений в почве, без всякого сомнения, протекают при участии различных групп микроорганизмов, находящихся друг с другом в метаболических, а часто и антагонистических взаимоотношениях. Видовой состав сообществ этих последовательно сменяющихся групп микроорганизмов до последнего времени практически не изучался, хотя их выяснение имеет кардинальное значение для анализа направленности почвообразовательного процесса. Без сомнения, в определенных почвах должны доминировать известные виды микробов, отражающие состав и состояние их органического вещества.

Между тем микробиологи, характеризуя микрофлору почвы, интересуются или суммарными числовыми показателями, или состоянием отдельных физиологических групп микробов, не дифференцируя входящих в них видов. Однако состояние последних значительно точнее отражает направленность почвообразовательного процесса. Это тем не менее упускается из вида, и исследователи, обрисовывая тип почвообразовательного процесса, пытаются его связать с ассоциациями тех или иных физиологических группировок микробов. При этом игнорируется то, что обычно физиологические группы микроорганизмов весьма обширны и включают значительный набор видов, приспособленных к весьма различным условиям среды. В силу сказанного следует признать тщетными попытки обнаружить почвы, в которых не существовало бы аммонификаторов, микробов, разлагающих клетчатку, денитрификаторов, азотфиксаторов и т. д. Взаимосвязь развития микроорганизмов и почвообразовательного процесса сказывается на видовом составе микробов, входящих в ту или иную физиологическую группировку, влияет на численность в почве этих микроорганизмов, но никогда не выключает полностью из жизни почвы представителей основных физиологических групп микробов. Исключением являются лишь отдельные, узко специализированные физиологические группы, вроде нитрификаторов, у которых понятия о функции и виде практически совпадают. В общем при вскрытии микробиологическим методом почвенных условий анализ должен базироваться на экологических группах микробов и на входящих в их состав видах.

В связи с изложенным следует подчеркнуть, что Вильямс ориентировал микробиологов на изучение определенных систематических групп

микроорганизмов почвы, указывая, например, что с деревянистой формацией уживаются грибы, актиномицеты и анаэробные бактерии, а под травянистой — преимущественно анаэробные бактерии и т. д. Следовательно, при развитии представлений Вильямса следует расшифровывать видовой состав микроорганизмов, населяющих почву.

Микроорганизмы являются тонкими индикаторами, и обстановка внешней среды резко влияет на их состав. В свое время данному вопросу была посвящена прекрасная работа Омелянского (21).

Показательные свойства низших существ, конечно, с успехом могут быть использованы в почвоведении и сельском хозяйстве. Развитие отмеченного нами направления явится может быть началом разработки почти не развивавшегося учения о ландшафтах в том духе, как это представлял себе Докучаев, когда в 1899 г. писал: «Есть даже полное основание надеяться, что в ближайшем будущем мы сумеем легко отличить между собой не только степные и лесные почвы, но и земли березовые, липовые, дубовые и прочие, что простой русский народ давно уже познал...»

Таким образом, мы полагаем, что при решении вопроса о микробиологической диагностике почвенного типа наиболее перспективно изучение видового состава микробного ценоза, связанного с превращением характерного для данного типа почвы органического вещества. Это обстоятельство должно быть особо подчеркнуто, так как в почве богато представлены микроорганизмы, развивающиеся в ризосфере растений и ассимилирующие их корневые выделения и свежие органические остатки. Эта микрофлора в последние годы служила предметом изучения ряда советских микробиологов и особенно детально исследовалась Красильниковым [13, 14].

Совершенно очевидно, что, решая поставленную задачу, мы должны были сделать попытку к вычислению (хотя бы и приблизительному) микроорганизмов ризосферы и выявить основной ценоз микробов, связанный с более глубокой переработкой органического вещества, свойственного почве. Без этого, может быть несколько условного, подразделения, нельзя было ставить на разрешение интересующий нас вопрос.

Целый ряд соображений, опубликованных ранее [19, 20], позволили нам предположить, что группой бактерий, трансформирующей более переработанные соединения, могущие быть рассмотрены как собственно органическое вещество почвы, являются в основном бациллы. Это не исключает, конечно, самой близкой связи между деятельностью других групп микроорганизмов (актиномицетов, грибов и т. д.) и превращением почвенной органики. Практические возможности, однако, позволили нам пока вести работу в основном со спорообразующими бактериями.

По мере накопления новых фактов к излагаемой ниже схеме будут делаться соответствующие дополнения, но мы считаем, что уже накопленные к настоящему времени данные позволяют создать надежную основу для изучения нового и принципиально важного вопроса.

Показательные свойства спорообразующих бактерий

Несмотря на небольшое время, истекшее с момента опубликования нашей работы о роли спорообразующих бактерий в почвенных процессах, высказанная нами точка зрения получила ряд подтверждений. Так Кузнецов [16], применив рекомендованный нами подход к исследованию воды, пришел к заключению, что на основе соотношения образующих и не образующих спор бактерий, а также по развитию нитрификационного процесса можно составить довольно верное представление об активности распада органического вещества водоема. Данное заключение полностью совпадает с выводами, сделанными нами еще в 1945 и 1947 гг.

Исследования, проведенные за 1945—1948 гг. [20] в Институте общей и коммунальной гигиены Академии медицинских наук и Центральном санитарном институте им. Эрисмана, также позволяют сделать вывод, что соотношение спорообразующих и неспорообразующих бактерий в почве может быть использовано для суждения о степени минерализованности мобильного органического вещества.

В связи с моментами, изложенными выше, необходимо, конечно, подчеркнуть, что спороносные бактерии рассматриваются нами как определенная экологическая группировка, состоящая из значительного числа видов. Учет общего числа бациллярных форм в почве может дать некоторые интересные моменты, но для глубокого понимания почвообразовательного процесса необходимо приблизиться к анализу состояния в почве отдельных видов данной группы микроорганизмов. Подобную попытку мы и осуществляем далее.

Переходя к изложению фактического материала, мы хотим напомнить, что до последнего времени микробиологи отрицают существование больших и принципиальных особенностей в видовом составе микрофлоры различных по типу почв. Наличие или отсутствие отдельных видов микробов в почве обычно рассматривается как факт локального порядка, не имеющий прямого отношения к формированию почвенного типа.

Некоторые исследователи, как, например, Лазарев, [17] и его сотрудница Былинкина [2] развивают подчас весьма интересные теории о взаимосвязи почвообразовательного процесса и населяющей почву микрофлоры. Однако они ограничиваются анализом поведения больших морфологических или физиологических групп микробов, что, по нашему мнению, не может дать глубокого понимания жизни почвы.

Для характеристики отношения микробиологов к затронутому нами вопросу мы ограничимся приведением выдержек из двух работ, разделенных между собой значительным периодом времени. В 1909 г. крупный микробиолог Северин [23], изучая микрофлору окрестностей г. Обдорска и полуострова Таймыр, писал: «Итак, почвы полуострова Ямала по численности своего бактериального населения не представляют ничего экстраординарного... Микробы в силу своих физиологических свойств,— питания, размножения, сопротивляемости неблагоприятным влияниям, своей ничтожной величине и проч. такие космополиты, что едва ли по их численности возможно какое-либо географическое распределение почв. Средние цифры температуры, освещения, осадков, и прочее, повидимому, мало что здесь решают. Если из всего года, как бы ни было крайне положение данной местности, выберется хотя бы месяц с достаточно высокой температурой, и влагой, при прочих сколько-нибудь благоприятных условиях, то бактериальная жизнь тотчас забьет полным ключом, хотя бы в остальное время эта жизнь едва будет тлеть».

Почти сорок лет спустя Крисс [15] опубликовал исследование, посвященное всестороннему изучению почв острова Врангеля, который был посещен им. По существу говоря, он полностью присоединился к основным положениям, высказанным в свое время Севериным. В заключение своей работы Крисс пишет: «В условиях сурового климата Арктики протекает жизнедеятельность самых разнообразных микроорганизмов и связанные с нею процессы круговорота элементов».

Вряд ли приходится делать какой-либо упрек только что упомянутым весьма квалифицированным авторам в недостаточной внимательности к изучаемым объектам. Они были ограничены общепринятыми подходами к анализу микрофлоры почвы. На самом деле, если, например, базироваться на общем подсчете микроорганизмов или учитывать численность представителей различных физиологических групп бактерий, то можно установить крайнее богатство почв Арктики микрофлорой. По нашим данным, в почвах Севера общее число бактерий, актиномицетов и грибов нередко превышает микронаселение плодородных черноземов. Например,

при изучении почв Ново-Сибирских островов мы нередко находили в них до 10 млн. бактерий на 1 г, в то время как в окультуренных черноземах Каменной степи их число не превышает 5—8 млн. на ту же навеску почвы.

После всего сказанного не приходится удивляться, что весьма опытные почвоведы повторяют высказывания микробиологов. В частности, отметим мнение Иенни [1], который (6) пишет: «Мы, пожалуй, будем недалеко от истины, если скажем, что почти все почвы в то или иное время получают представителей большей части видов почвенных микроорганизмов. Это позволяет утверждать, что в огромном большинстве почв действует один и тот же биологический фактор».

Далее мы покажем, насколько ошибочны подобные представления. Это ясно вскрывается при первых же попытках внимательно проследить хотя бы экологию спорообразующих бактерий.

На основе произведенного нами анализа бациллярного населения различных почв можно уже сейчас сделать ряд существенных выводов. Однако полученные данные нельзя изложить в небольшой статье, и в настоящей работе мы разбираем лишь ряд общих положений, которые будут развиты в серии дальнейших публикаций.

Прежде всего попытаемся проанализировать положение о мнимой тождественности микрофлоры различающихся по типу почв. Если встать на точку зрения Вильямса, то отдельные почвы должны разниться между собой по возрасту. Отсюда следует ожидать, что молодые почвы (особенно тундровые) должны быть наиболее бедны микрофлорой, связанной с трансформацией сильно измененного органического вещества. Как уже указывалось выше, подобной группой из бактерий признаются нами бациллы.

Посмотрим, как обильно представлены они в почвах, предположительно различающихся по возрасту. Надо отметить, что в каждой зоне имеется гамма почвенных разностей, образование которых обусловлено типом растительности и другими факторами. Все это накладывает свой отпечаток на состав микрофлоры. Тем не менее моменты более частного порядка, вообще представляющие значительный практический и теоретический интерес и не упускаемые нами из поля зрения, здесь почти не рассматриваются. В настоящей статье даются лишь отдельные фрагменты, помогающие уяснить основные результаты, полученные при исследовании.

В табл. 1 приводятся материалы, показывающие примерное содержание общего числа бактерий и бациллярных форм в различных почвах. Расчет дан на 1 г почвы и на 1 г ее органического вещества. Последний прием нами позаимствован у Лазарева, который вполне справедливо считает, что биогенность почвенной массы правильнее характеризуется при расчете микробного населения не на навеску почвы, а на часть ее, в которой эти микроорганизмы размножаются. Лазарев советует пересчеты делать на азот почвы, мы вычисляем микробную обсемененность на 1 г органического вещества почвы.

Из приведенного материала нетрудно заключить, что при переходе с севера на юг число спорообразующих бактерий в почве закономерно увеличивается. Подобная тенденция значительно менее рельефно выражена на общем числе бактерий, т. е. на показателе, величина которого в основном определяется неспороносной микрофлорой. Следует вообще заметить, что число неспороносных бактерий в почве чрезвычайно сильно зависит от условий погоды и сильно колеблется в отдельные времена года. Значительно более сглаженную сезонную динамику показывает число бациллярных форм, и это служит лишним доводом за использование их в качестве индикаторных организмов.

[1] Ряд ошибочных положений Иенни отмечен в предисловии к переводу его книги Бушинским [1].

Таблица 1

Содержание общего числа бактерий и спорообразующих их форм в разных почвах

Исследованная почва	Расчет на 1 г почвы		Расчет на 1 г органического вещества	
	общее число бактерий в тыс.	общее число бациллярных форм в тыс.	общее число бактерий в тыс.	общее число бациллярных форм в тыс.
Тундры				
Земля Франца-Иосифа				
Прибрежная терраса, полярная пустыня с растительностью	2 400	0,200	30 000	2,5
Прибрежная терраса болота со мхом	5 000	0,170	33 000	1
Плато высотой 170 м над уровнем моря, полигональная тундра	480	0,150	16 000	5
Ново-Сибирские острова				
Полигональная полярная пустыня	2 900	5,400	24 000	45
Полигональная полупустыня под голым пятном	450	1,000	22 500	50
Гипновое болото	1 000	8,900	5 300	47
Полуостров Таймыр				
Аллювиальная почва под травяным покровом	700	6,700	9 800	94
Остепненный склон	1 200	33,000	10 800	300
Плато, пятно под Deschampsia	4 000	3,800	22 400	22
Лесотундра *				
Смешанный лес	114	18	3 400	550
Свежая раскорчевка леса	66	20	2 000	600
Поле, бывшее под культурой 2 года	300	110	17 500	2 700
Поле, бывшее под культурой 7 лет	560	170	13 000	4 000
Лесная зона				
Соликамское опытное поле, луг	500	80	16 000	2 560
Соликамское опытное поле, неудобренное поле, посев овса	720	125	22 000	3 750
Соликамское опытное поле, унавоженное поле, посев овса	1 400	310	38 000	8 400
Под Москвой, смешанный лес	250	38	10 000	1 420
Под Москвой, неудобренное поле после картофеля	440	230	15 000	7 500
Под Москвой, унавоженное поле, посев картофеля	870	380	26 000	11 500
Степная зона				
Каменная степь, залежь	1 200	530	13 000	5 830
» » клеверное поле	1 500	600	17 000	6 600
Аскания Нова, целина	2 200	800	26 000	9 600
» » пашня	2 600	1 100	31 000	13 000
Сухие степи и пустыни				
Под Баку, бурая неокультуренная почва	700	260	34 000	12 500
Под Баку, бурая почва, посев хлопчатника	6 300	1 400	280 000	63 000
Голодная степь, багара	2 200	650	112 000	33 000
» » посев хлопчатника	8 900	780	450 000	40 000

* Данные взяты из работы О. И. Пушкинской

Из цифр табл. 1 видно, что растительный покров и особенно окультуривание заметно сказываются на обсемененности почв бациллярными формами. В целом же для каждой почвенной зоны мы получаем достаточно красочные показатели. Так на 1 г органического вещества общее число бацилл обычно достигает:

В почвах	тундры	до	100	тыс.
»	» лесотундры:			
	целинных	»	600	»
	окультуренных	»	4 000	»
»	» лесной зоны:			
	целинных	»	1 500	»
»	» окультуренных	»	10 000	»
»	» степной зоны:			
	целинных	»	6 000	»
	окультуренных	»	15 000	»
»	» сухих степей и пустынь:			
	целинных	»	30 000	»
	окультуренных	»	50 000	»

Остановимся на вопросе о видовом составе доминантных форм спорообразующих бактерий почвы. В почве, без сомнения, могут быть обнаружены весьма разнообразные бациллы, однако в массовом количестве представлены лишь некоторые из них. Мы считали целесообразным подробно исследовать виды (вернее группы), встречающиеся в почве в большом числе.

В нашей работе мы придерживались того более пространного понятия о виде, которое принято в определителе Красильникова, игнорируя мелкие отличия между отдельными вариантами бактерий. Поэтому может быть правильнее в дальнейшем изложении будет говорить о бактериальных группах, объединяющих ряд близких видов. Возможно, что при дальнейшей работе будет целесообразно использовать более детальный анализ состава спороносных бактерий.

Современное состояние знаний о видовом составе спорообразующих бактерий почвы весьма ограниченно. В одном недавно опубликованном обзоре в составе доминантного бактериального населения почв отмечаются лишь два вида бацилл — Bac. mycoides и Bac. cereus. Отсюда следует сделать заключение, что сколь-либо серьезно видовой состав микроорганизмов почвы по существу никто не изучал.

За ряд последних лет мы имели возможность проанализировать микрофлору весьма различных почв, начиная с Крайнего Севера и кончая субтропической зоной. На основе знакомства с бациллярным составом весьма разнообразных почв мы можем заключить, что наиболее часто здесь обнаруживаются нижеуказываемые группы спорообразующих бактерий. Определение данных микроорганизмов мы производили по определителю микроорганизмов Красильникова, причем сходные формы сближались.

Даем перечень доминантных групп спорообразующих бактерий почвы:

1. Bac. agglomeratus — дают на питательных средах относительно небольшие сероватые, иногда с зеленоватым отливом колонии.

2. Bac. cereus — характеризуются плоскими, относительно диффузными колониями, с ровной как бы мучнистой поверхностью.

3. Bac. mycoides — с мицелевидными колониями, хорошо известными всем микробиологам.

4. Bac. idosus — бактерии, сформированные колонии которых имеют пленчатую форму. С помощью препаровальной иглы легко можно снять колонию подобной бактерии с поверхности агаризованной среды.

5. Bac. virgulus — образуют слизистые сероватые колонии с сильно тягучей консистенцией.

6. Bac. megatherium — дают слизистые колонии, состоящие из характерных толстых клеток.

7. Bac. mesentericus и Bac. subtilis — с колониями, обычно въедающимися в питательную среду и имеющими морщинистую поверхность. Данная группа включает много разновидностей, внешний вид колоний которых довольно сильно различается между собой.

Установление доминантных форм спорообразующих бактерий было нами произведено при использовании определенной методики [1], что, конечно, ограничило и наши познавательные возможности. Не исключена возможность, что с помощью иных методов исследования можно приведенный нами список бациллярных групп расширить. Это дело будущего, равно как и описание некоторых бактериальных видов, развивающихся на применявшихся средах, но пока не учтенных нами.

В итоговой табл. 2 мы даем несколько схематизированный перечень доминантных форм спорообразующих бактерий для разных почвенных типов. Нетрудно заметить, что в зависимости от типа высшей растительности господствующая бациллярная микрофлора резко меняется, в частности, окультуренность почвы кладет столь специфический отпечаток на состав спорообразующих бактерий, что по данному признаку можно в любой зоне подразделить почвы по степени их потенциального плодородия. Отмечая доминантные спорообразующие бактериальные формы, мы должны оговориться, что в каждой почве может быть найдено некоторое количество клеток и других бацилл, но они будут представлены в доста-

Таблица 2

Доминантные формы спорообразующих бактерий разных почв

Почва	Бактериальные виды							Энергия нитрификационного процесса
	Bac. agglomeratus	Bac. cereus	Bac. mycoides	Bac. virgulus	Bac. idosus	Bac. megatherium	Bac. mesentericus	
Тундра	++	++						Процесс подавлен
Лесотундра:								
неокультуренные	++	++						То же
окультуренные	++	++	+					» »
Лесная зона:								
неокультуренные	+	++	++	++				» »
окультуренные	+	++	++		+	+	+*	Удовлетворительная
Степная зона:								
неокультуренные		+	+		++	+		Высокая
окультуренные		+	+		++	++	+*	»
Сухие степи и пустыни:								
неокультуренные		+			++	+	++	»
окультуренные		+			++	++	++	»

Примечание. + — бактерии присутствуют в значительном числе; ++ — бактерии присутствуют в очень большом числе.

* Бактерии обнаруживаются только в унавоженных почвах.

[1] Исследуемая почва подсушивалась при комнатной температуре, что способствовало переходу вегетативных клеток в споры. Суспенсия почвы пастеризовалась при 70° в продолжение 15 минут. Посев производился на поверхность агаровой среды, состоявшей из 50% МПА и 50% сусло-агара (pH = 7,0). На этой среде легко дифференцируются разные виды бактерий.

точной степени бедно. Таким образом, приведенный нами материал полностью снимает положение о тождественности микрофлоры почв, формирующихся под разными растительными формациями.

В заключение настоящего раздела можно указать, что Вильямс под деревянистой и луговой травянистой растительными формациями допускал преобладание анаэробных бактерий, а под степной растительной формацией — аэробных бактерий. К настоящему времени микробиологи подробно не изучили степени анаэробности сапрофитных бактерий почвы. Тем не менее предварительно накопленный нами материал позволяет думать, что высказывания Вильямса могут быть подтверждены.

Нитрификационная способность почвы и отношение к формам азотного питания у доминантных групп спорообразующих бактерий

Напряженность микробиологических процессов почвы, как это следует из сказанного выше, вполне может быть коррелятивно связана с размножением спорообразующих форм бактерий. При достаточном объеме распада органического вещества в почве нитрифицирующие бактерии получают необходимое количество аммиака, служащего для них источником энергии и питания. Не удивительно поэтому, что лишь в почвах, имеющих значительное число бацилл, наблюдается энергичная нитрификация. Аналогичная картина была отмечена Кузнецовым и при исследовании воды. Исходя из обширных наблюдений Корсаковой [8], Лазарева и собственных данных в табл. 2, мы отметили примерную напряженность нитрификационного процесса в разных почвах.

Из приведенного материала нетрудно установить, что активный нитрификационный процесс совпадает с размножением в почве следующих спорообразующих бактерий: Bac. idosus, Bac. megatherium и Bac. mesentericus. Эта закономерность столь постоянна, что при нахождении в почве большого числа отмеченных видов бактерий можно с уверенностью говорить об успешном протекании в ней нитрификационной деятельности. Вполне понятно, что отмеченная нами взаимосвязь представляет интерес агрономического характера, так как позволяет по данным микробиологического исследования судить об определенных свойствах почвы и активно их изменять.

Поскольку различные спорообразующие бактерии обитают в почвах в неодинаковом азотном режиме, мы предположили, что это должно отразиться на их физиологических свойствах. В нашей лаборатории Тимофеевой было проверено отношение отмеченных в табл. 2 бацилл к минеральным и органическим источникам азотного питания. Оказалось, что бациллы лучше всего размножаются на белковом азоте. Однако формы, обычно живущие в почвах с высокой нитрификационной способностью, т. е. Bac. idosus, Bac. megatherium и Bac. mesentericus, достаточно хорошо могут существовать, используя азот аммиачных соединений и нитратов. В этом же мы склонны усмотреть известную адаптационную реакцию.

Можно отметить, что в исключительно высокоплодородных парниковых почвах мы в значительном числе обнаружили недавно описанного нами бацилла — Bac. longissimus, который мог развиваться только на минеральных источниках азота. С только что указанной точки зрения появление в почве подобной формы легко поддается объяснению.

Состав неспорообразующих бактерий в разных почвах

Сколь-либо детальным исследованием видового состава неспоронос-ных бактерий почвы микробиологи занимались весьма мало. Как мы уже отмечали, данные микроорганизмы энергично размножаются в зоне ризосферы растений и на свежих растительных остатках. Различные

почвы вместе с тем неодинаково богаты легкоподвижными органическими веществами, что зависит от прироста органического вещества и быстроты его распада. Например, в почвах тундры, высокогорных луговых почвах и отчасти под лесным пологом отмирающая растительная масса разлагается относительно медленно. Это должно, конечно, сказаться на составе неспорообразующих бактерий почвы.

На самом деле ряд сделанных нами наблюдений позволяет заключить, что в почвах, подобных только что отмеченным, чрезвычайно богато представлены неспороносные палочки, дающие желтопигментированные колонии. Подобные формы обычно встречаются в значительном числе и в зоне ризосферы. Аналогичные микроорганизмы были, очевидно, отмечены Былинкиной на первых фазах распада белковых веществ, наблюдавшихся в лабораторных условиях. Вообще же из неспороносных бактерий в почве преобладают представители видов Pseudomonas и Achromobacter.

У нас создается также впечатление, что на свежеразлагающихся растительных остатках обильно размножаются микобактерии. Поэтому в почвах Арктики и горных лугов в значительных количествах обнаруживаются микобактерии.

Неслучайным мы считаем и то, что лишь в торфяных и богатых слабо разложившимися растительными остатками почвах в больших количествах встречаются дрожжи. Медленный распад углеводов дает возможность здесь существовать этим микроорганизмам.

Более детально зависимость между типом почвообразовательного процесса была нами прослежена на примере микроорганизмов, разрушающих клетчатку и играющих огромную роль в жизни почвы. Данную физиологическую группировку мы дифференцируем следующим образом:

а) медленно растущие грибы из рода Dematium; б) быстро развивающиеся несовершенные и пикнидиальные грибы; в) миксобактерии преимущественно из родов Myxococcus и Polyangium); г) миксобактерии из рода Cytophaga; д) целлюлозные вибрионы (Cellvibrio).

Отмеченные группы микроорганизмов предъявляют весьма неодинаковые требования к питательному субстрату. Наименее прихотливы из них грибы из рода Dematium. Поэтому они доминируют в почвах тундры и лесной зоны, где мобилизация азота протекает крайне медленно. Наряду с ними обнаруживаются здесь несовершенные и пикнидиальные грибы. Их удельный вес резко возрастает в почвах, подвергающихся окультуриванию и в более южной зоне.

В почвах подзолистой зоны бактерии начинают активно размножаться лишь под луговой растительностью и на окультуренных полях. При этом в первую очередь здесь появляются полиангиды. При более благоприятном азотном уровне заметно увеличиваются в числе вибрионы, разлагающие клетчатку. Cytophaga обнаруживаются в заметном количестве лишь в унавоженных почвах.

В почвах степной зоны и сухих степей наряду с разнообразными грибами находятся миксобактерии. Здесь, как мы уже описывали ранее, встречаются весьма специфичные и отсутствующие в других почвах виды полиангид.

Окультуривание и здесь приводит к усилению размножения вибрионов и Cytophaga.

Бегло отмеченные нами изменения в видовом составе целлюлозоразлагающих микроорганизмов осложняются в природе сезонными явлениями, на чем мы здесь останавливаться уже не можем.

В общем даже тот небольшой материал, которым мы сейчас располагаем, вполне позволяет по состоянию в почве некоторых неспорообразующих бактерий представить довольно верное суждение о подвижности почвенного азота и потенциальном плодородии почвы. Отсюда могут быть даны рекомендации по изменению природы почвы.

Выводы

1. До сих пор не признававшаяся специфичность в составе микробного населения в почвах, сформировавшихся под различными растительными формациями, является необоснованной. Микроорганизмы, обитающие в различных почвах, резко отличаются по своему составу.

2. Автором работы показано, что в почвах, разнящихся, по мнению Вильямса, в возрасте, содержится весьма характерная по количественному и качественному составу бациллярная микрофлора.

3. Спорообразующие бактерии рассматриваются автором настоящей работы как формы, более характерно подчеркивающие особенности почвообразовательного процесса. Существование других групп микроорганизмов почвы закономерно связано с размножением бацилл. В работе приведен ряд примеров, иллюстрирующих эту зависимость.

4. Собранный материал показывает, что анализ текущего состояния почвы и суждение о необходимых путях изменения почвенной биодинамики для повышения ее плодородия могут быть легко осуществлены на основании анализа видового состава микробных ассоциаций почвы.

Институт микробиологии
Академии Наук СССР
Москва

Получено 5.VIII.1949

ЛИТЕРАТУРА

1. Бушинский В. П. Предисловие к книге Г. Иенни «Факторы почвообразования». Гос. изд-во иностр. литературы, 1948.
2. Былинкина В. К. К познанию почвенной микрофлоры, как конституционной части биоорганоминерального комплекса почвы. Микробиология, IX (2), 129, 1939.
3. Вильямс В. Р. Почвоведение, Сельхозгиз, 1947.
4. Докучаев В. В. Русский чернозем. Отчет Вольному Экономическому обществу, СПб., 1883, переиздание с.-х. изд., 1948.
5. Докучаев В. В. Учение о зонах природы. Географгиз, М., 1948.
6. Иенни Г. Факторы почвообразования. Гос. изд-во иностр. литературы, 1948.
7. Кононова М. М. Проблема гумуса и современное ее состояние в свете учения акад. В. Р. Вильямса. Сб. докладов сессии в память 85-летия со дня рождения акад. В. Р. Вильямса. Изд. Почвен. ин-та АН СССР, Москва, 1949.
8. Корсакова М. П. Итоги стационарных работ по биодинамике почвы. Тр. Всесоюзного ин-та с.-х. микробиологии, 4, 1, 1929.
9. Костычев П. А. Почвы черноземной области России, СПб, 1886.
10. Костычев П. А. Почвоведение, М.— Л., 1940.
11. Костычев П. А. Связь между почвами и некоторыми растительными формациями. Тр. VIII съезда русских естествоиспытателей и врачей, 1889.
12. Костычев П. А. Почвы черноземной области России, их происхождение, состав и свойства. М.— Л., Сельхозгиз, 1937.
13. Красильников Н. А. Микрофлора ризосферы и ее влияние на урожайность и рост растений. Химизация соц. земледелия, 7, 36, 1940.
14. Красильников Н. А. О взаимодействии микроорганизмов почвы с растениями. Природа, 3, 41, 1941.
15. Крисс А. Е. Микроорганизмы тундровых и полярно-пустынных почв Арктики. Микробиология, XVI (5), 437, 1947.
16. Кузнецов С. И. Применение микробиологических методов к изучению органического вещества в водоемах. Микробиология, XVIII (3), 203, 1949.
17. Лазарев Н. М. Типы биоорганоминеральных систем различных почв. Тр. Ин-та с.-х. микробиологии, стр. 23, 1949.
18. Ломоносов М. В. Цитировано по статье Д. Г. Виленского: «Роль и значение Докучаева в истории почвоведения», Почвоведение, 6, 343, 1946.
19. Мишустин Е. Н. О роли спороносных бактерий в почвенных процессах. Микробиология, XVII (3), 201, 1948.
20. Мишустин Е. Н. Соотношение бактериальных форм в почве как показатель ее самоочищения. Сборник «Загрязнение и самоочищение внешней среды». Изд-во Академии медицинских наук, стр. 116, 1949.
21. Омелянский В. Л. Микроорганизмы, как химические реактивы. Научное хим.-тех. изд-во, 1924.
22. Прасолов Л. И. Почвы СССР. Изд. Почвенн. ин-та АН СССР, 1939.
23. Северин С. А. Бактериальное население нескольких образцов почв из далекого севера (г. Обдорск и полуостров Ямал). Вестник Бактериолого-агрономической станции, 15, 116, 1909.
24. Сукачев В. Н. Советское направление в фитоценологии. Вестник АН СССР, 2, 101, 1948.
25. Тюрин И. В. Органическое вещество почвы. Сельхозгиз, 1937.

ВЛИЯНИЕ СТЕПЕНИ АЭРАЦИИ НА АВТОТРОФНОЕ И ГЕТЕРОТРОФНОЕ ПИТАНИЕ CHLORELLA

И. Л. Работнова и *И. В. Конова*

При настоящей степени развития микробиологии, когда обмен веществ у микробов уже до известной степени изучен, встает на очередь вопрос о том, как можно управлять обменом, направлять его в желаемую сторону. Шапошников [8] еще в 1939 г. сформулировал эту задачу по отношению к бродильной микробиологии: «...сейчас мы уже стремимся к более полному овладению процессами с тем, чтобы научиться управлять ими не только с точки зрения интенсификации их, но также с точки зрения изменения их направления и получения новых продуктов». Исследования в этом направлении ставились уже неоднократно. Давно известно управление обменом у дрожжей. Меняя условия аэрации, можно получить то дрожжевую массу, то продукты брожения. Добавляя определенные вещества к бродящей культуре, можно получать различные продукты брожения. Хорошо известно получение глицерина при спиртовом брожении в присутствии бисульфита или образование уксусной кислоты и глицерина наряду со спиртом при брожении в щелочной среде (Neuberg [11]). Другим ярким примером являются уксуснокислые бактерии, которые могут в анаэробных условиях осуществлять спиртовое брожение, тогда как в нормальных для них аэробных условиях они окисляют сахара до соответствующих кислот (Simon [12]. Хорошо известны случаи изменения хода брожения и соответствующее накопление различных продуктов у плесневых грибов. Так Asp. niger в кислых условиях образует главным образом лимонную кислоту, а при нейтральной реакции среды в присутствии мела глюконовую и щавелевую (Буткевич [3]).

Для подобных смещений процессов обмена существует ряд методов. Очень мощным орудием для этой цели является активная кислотность. Так, например, ацетонобутиловое брожение в естественной кислой среде протекает с образованием нейтральных продуктов, а в присутствии мела в нейтральной среде образуются только жирные кислоты (Шапошников [7], стр. 280). Подобных примеров можно привести много. Можно сдвигать направление процессов, добавляя вещество, реагирующее с промежуточными продуктами, меняя минеральное или витаминное питание. Очень действенным средством является изменение окислительно-восстановительных условий. Как можно изменить течение лимоннокислого брожения, меняя условия аэрации, показано Кузнецовым [6]. Эта работа особенно интересна потому, что в ней окислительно-восстановительные условия измерялись количественно посредством определения rh. При сильно окислительных услових, при rh выше 17, сахар сжигается до CO_2 и H_2O. При несколько более низких значениях rh образуется лимонная кислота, а при резко анаэробных условиях образуется спирт и не образуется лимонной кислоты. Аналогичное изменение брожения описано Канель [14] у Rhizopus nigricans. Этот гриб при rh ниже 8 образовывал молочную кислоту, а при более высоких значениях — фумаровую.

В работе Красиной [5] на примере бактерий, разлагающих муравьиную кислоту, показано, что при разных rh образуются разные продукты брожения. В резко анаэробных условиях при rh = 6—7 образуется метан

и CO_2. При средних значениях rh = 12—13 образуется водород и CO_2, а при аэробных условиях rh = 17—19 образуется только углекислота.

Для изучения вопроса о том, какие сдвиги обмена веществ можно получить, меняя степень аэрации, мы избрали в качестве объекта исследования одноклеточную водоросль Chlorella. Этот организм интересен в том отношении, что обладает исключительно разнообразным обменом веществ. Как хлорофиллоносный организм она способна к автотрофному питанию. Кроме того, она хорошо развивается гетеротрофно за счет разнообразных органических веществ (Артари [1, 2]) и, наконец, имеются указания Genevois [9] на то, что она способна и к брожению.

Способ гетеротрофного питания Chlorella изучался Myers [10], который показал, что хлорелла осуществляет так называемую окислительную ассимиляцию органических веществ. Этот процесс может быть характеризован следующим уравнением:

$$C_6H_{12}O_6 + O_2 \rightarrow 5\,(CH_2O) + CO_2 + H_2O,$$

где в скобках указано вещество, непосредственно идущее на синтез вещества тела. Можно видеть, что хлорелла использует сахар необычайно экономично: $^5/_6$ частей сахара идет на ассимиляцию и только $^1/_6$ сжижается до CO_2.

Что касается бродильных способностей хлореллы, то о них известно только то, что в анаэробных условиях образуются органические кислоты. Идет ли при этом размножение клеток,— неизвестно.

Задачей настоящего исследования являлось изучить, в какой мере возможно переключить хлореллу с гетеротрофного типа питания на автотрофный, меняя окислительно-восстановительные условия.

Экспериментальная часть

Работа велась с чистой культурой Chlorella vulgaris, имеющейся в Музее культур кафедры микробиологии Московского государственного университета. Культура поддерживалась на сусловом агаре.

Предварительные опыты

Исследуемый штамм довольно скудно растет на синтетической среде на свету и несравненно лучше на сусле [1]. На среде Артари [2] за 5—7 дней вырастает 2—4 млн. клеток в 1 мл, а на сусле 5° Балл. в тех же условиях освещения — 20—30 млн. Поэтому вся работа велась на сусле. Прежде всего необходимо было установить оптимальную концентрацию сусла. Для этой цели хлорелла выращивалась в колбочках емкостью в 150 мл, содержащих по 30 мл сусла различной концентрации. Опыты были поставлены при естественном освещении солнечным светом на окне лаборатории, один раз летом и другой раз осенью, и в термостате при освещении лампой в 55 свечей на расстоянии 30 см. Температура в термостате 24—25°. Результаты опытов представлены в табл. 1.

Таблица 1

Развитие хлореллы на сусле разной концентрации

Концентрация сусла в Балл.	Урожай в млн. на 1 мл		
	на окне в июне за 13 дней	на окне в ноябре за 5 дней	в термостате за 13 дней
1	70	7,8	15,4
3	33	6,6	3,0
5	22	5,8	2,2
6	15	4,8	—

[1] По данным дипломной работы студентки Баткиной, хлорелла нуждается в витаминах.

[2] Состав среды: $MgSO_4$ — 0,025%, NH_4NO_3 — 0,25%, KH_2PO_4 — 0,2%, $FeCl_3$ — следы, глюкоза — 1%.

Опыт показал, что хлорелла весьма чувствительна к концентрации сусла. Эта чувствительность может быть объяснена двумя причинами: или хлорелла требует низких концентраций питательных веществ, т. е. низкого осмотического давления, или она чувствительна к каким-либо составным частям сусла, например, к продуктам карамелизации, которые образуются при стерилизации. Действительно, на более темном сусле урожай получается вдвое меньший, чем на светлом. Однако, повидимому, и концентрация питательных веществ имеет значение. Об этом свидетельствует следующий опыт: на минеральной среде Артари в одном случае было взято $(NH_4)_2SO_4$ из расчета 0,5 мг N на литр, а в другом 0,05 мг. В первом случае урожай был 6,2 и 6,5 млн. в 1 мл в двух параллельных колбах, а во втором 33,4 и 37 млн.

Кроме того, данные табл. 1 показали, что интенсивность освещения играет очень существенную роль. При ярком солнечном свете и длинном дне в июне урожай получается во много раз больший, чем в ноябре. В условиях термостата величины урожая близки к величинам урожая в ноябре. Для того чтобы получить сравнимые результаты в различных опытах, мы должны были все последующие опыты ставить в термостате в одинаковых условиях освещения. Кроме того, для всех опытов было сразу приготовлено большое количество сусла, чтобы разница в его качестве не влияла на результаты.

Опыты по культивированию хлореллы в анаэробных условиях

Так как литературные данные об обмене веществ у хлореллы в анаэробных условиях неясны, мы поставили несколько опытов по культивированию ее без доступа воздуха. Сусло нейтрализовалось содой, прогревалось для удаления растворенного кислорода, быстро охлаждалось и наливалось в высокие пробирки. Производился посев хлореллы. Сверху среда заливалась слоем вазелинового масла до самой пробки, и пробирки закупоривались каучуковой пробкой. Пробирки помещались в горизонтальном положении в термостат и снизу освещались лампой. Опыт ставился не только на свету, но и в темноте. В последнем случае пробирки помещались в том же термостате, но оборачивались светонепроницаемой бумагой. При постановке и снятии опытов определялись урожай клеток счетом в камере Тома, количество сахара методом Бертрана и pH на потенциометре. Результаты приведены в табл. 2.

Таблица 2

Развитие хлореллы в анаэробных условиях

№ опыта	Длительность в днях	Условия	pH		Сахар в %		Число клеток в млн. в 1 мл		Примечание
			нач.	кон.	нач.	кон.	нач.	кон.	
1	8	Свет	6,31	4,61	7,1	6,0	—	1,6	Сусло 7° Балл.
		Темнота	6,31	5,61	7,1	5,92	—	2,0	
2	19	Свет	6,74	5,09	1,9	1,8	11,97	7,96	Сусло 2° Балл. + + 0,01% соды
		Темнота	6,74	6,17	1,9	1,53	11,97	5,68	
3	11	»	6,48	6,22	3,1	2,6	1,13	0,4	Сусло 2,5° Балл. + + 0,01% соды
4	22	»	6,4	5,7	1,8	1,5	1,7	7,4	Сусло 2° Балл. + + 0,01% соды
5	9	Свет	6,39	6,39	3,33	—	10,2	2,88	Сусло 3° Балл.
		Темнота	6,39	6,30	3,33	—	10,2	2,72	

Из приведенных результатов видно, что в анаэробных условиях размножения клеток нет, но жизнедеятельность не прекращается. Происходит потребление сахара и образование кислот, о чем свидетельствует подкисление среды. Различий между опытами в темноте и на свету нет.

При рассматривании под микроскопом клеток после опыта оказалось, что их вид изменился: клетки стали мелкие, потеряли правильную округлую форму. В опытах 4 и 5 производилось измерение окислительно-восстановительного потенциала при помощи платинированных платиновых электродов. В 5-м опыте rh на свету и в темноте держался на уровне 17—19, а в 4-м опыте rh = 13. Аналогичный опыт был поставлен на синтетической среде для того, чтобы определить природу образующихся кислот. На сусле это затрудняется тем, что в самом сусле имеются кислоты. Была использована среда Артари с 1% глюкозы и с дрожжевым автолизатом в таком количестве, чтобы азота в среде содержалось столько же, сколько и в двухбаллинговом сусле. Азот определялся микрометодом Кьельдаля. Витамины, в которых нуждается хлорелла и которые имеются в сусле, имеются также и в дрожжевом автолизате, который с успехом может заменить сусло (по данным Баткиной). Результаты приведены в табл. 3.

Таблица 3

Развитие хлореллы на синтетической среде в анаэробных условиях

Длительность опыта в днях	Условия	pH		Сахар		Кислотность 40 мл бражки в мл 0,1 *N* NaOH	
		нач.	кон.	нач.	кон.	общая	летучая
20	Темнота	6,9	5,8	0,9	0,5	8,4	6,3

Был проведен высев на чашки Петри с сусловым агаром в начале и в конце опыта. Вначале по счету колоний в 1 мл найдено 2 млн. клеток, в конце — 700 000.

Таким образом, без доступа воздуха, при rh = 13—18 хлорелла не размножается. Однако имеющиеся клетки не погибают. Они используют сахар и образуют летучие и нелетучие кислоты.

Опыты по культивированию хлореллы в различных условиях аэрации

Различные окислительно-восстановительные условия создавались при помощи различных газовых смесей, продуваемых через культуру. Хлорелла культивировалась в следующих смесях: в азоте, содержащем около 1% кислорода, в смеси азота с воздухом и в кислороде. Во всех случаях добавлялось 5% CO_2. Опыты проводились в специальных сосудах, представляющих собой цилиндры диаметром в 2,5 см и длиной 30 см. Один конец сужен и закрывается водонепроницаемым, но электропроводным материалом: гипсом с KCl и 4% агаром с 3% KCl. В стенки сосуда впаяны 3 электрода для измерения Eh. Цилиндры закрываются каучуковой пробкой с двумя отверстиями, сквозь которые пропущены стеклянные трубки: одна до дна, другая короткая. После стерилизации сосудов они наполовину наполняются стерильным двухбаллинговым суслом (25 мл) и производится посев. Затем через среду продувается газовая смесь в течение 20 минут, и сосуды укладываются в термостате горизонтально для того, чтобы создать тонкий слой среды и бо́льшую площадь соприкосновения среды с атмосферой. Один сосуд освещается снизу, а другой обертывается светонепроницаемой бумагой. Обе газоот-

Таблица 4

Развитие хлореллы при разных условиях аэрации

№ опыта	Условия	Длительность в часах	pH нач.	pH кон.	rh среднее за время опыта	Eh в mV	Сахар в % нач.	Сахар в % кон.	Сахар в % потр.	Потребление сахара в мг на сосуд 25 мл сусла	Число клеток в млн./мл нач.	Число клеток в млн./мл кон.	Масса (объем) клеток в мм³/мл нач.	Масса (объем) клеток в мм³/мл кон.	Масса (объем) клеток в мм³/мл прирост	Прирост в мм³ на сосуд (25 мл сусла)	Потребление сахара в мг на 1 мм³ массы
	Газовая смесь: N_2 — 10 л, CO_2 — 0,5 л																
1	Свет	47	6,70	6,30	21,2	+237	2,17	1,62	0,55	140	2,8	4,9	0,29	2,12	1,53	45,7	3,00
	Темнота	47	6,70	6,48	19,3	+182	2,17	1,53	0,64	160	2,8	4,4	0,29	2,25	1,96	49,0	3,26
2	Свет	47	6,71	6,70	22,3	+255	2,17	1,53	0,64	160	2,6	3,5	0,24	2,25	2,01	50,2	3,18
	Темнота	47	6,71	6,83	21,9	+226	2,17	1,72	0,45	112	2,6	3,2	0,24	2,00	1,76	44,0	2,56
	Газовая смесь: N_2 — 7 л, воздух — 3 л, CO_2 — 0,5 л																
1	Свет	50	6,74	6,56	22,5	+267	2,53	1,81	0,72	180	2,1	4,8	0,20	3,00	2,8	70,0	2,57
	Темнота	50	6,74	6,22	21,2	+243	2,53	1,53	1,00	250	2,1	4,76	0,20	2,5	2,3	57,5	4,35
2	Свет	45	6,90	6,48	24,6	+327	2,12	1,80	0,32	80	2,6	7,5	0,28	4,5	4,22	105,5	0,75
	Темнота	47	6,90	6,74	23,0	+273	2,12	1,60	0,52	130	2,6	5,6	0,28	3,0	2,72	68,0	1,91
	Газовая смесь: O_2 — 10 л, CO_2 — 0,5 л																
1	Свет	45	6,83	6,04	23,9	+322	2,87	2,71	0,16	40	6,5	9,4	0,16	5,3	5,14	128,5	0,31
	Темнота	47	6,83	6,30	25,3	+354	2,87	1,89	0,98	245	6,5	3,1	0,16	5,1	4,94	123,5	1,98
2	Свет	47	6,74	6,30	28,2	+425	2,12	2,12	0,00	0	0,93	10,3	0,26	5,5	5,24	115	0,0

водные трубки герметически закрываются. Пропускание газа производилось периодически каждые два-три часа, ночью интервал был до 6—7 часов. За 20 минут пропускалось 1—1,5 л газовой смеси. Длительность опытов 45—50 часов. В течение опыта определялся окислительно-восстановительный потенциал. Измерения велись до и после продувания газовой смеси.

Непосредственно после продувания Eh несколько поднимается, а затем постепенно снижается. Поэтому Eh и rh не держится строго на одном уровне, а несколько колеблется. Колебания rh иногда незначительны — в пределах единицы, а иногда достигают 3—4 единиц. В таблице представлены средние значения, т. е. та величина, вокруг которой происходят колебания. В начале и в конце определялись pH, сахар по Бертрану, число клеток счетом в камере Тома, масса (объем) выросших клеток. В предыдущих опытах было замечено, что величина клеток различна, поэтому учет урожая по числу клеток может быть неточен. Объем клеток определялся центрифугированием 2 мл культуральной жидкости в специальных центрифужных пробирках, оканчивающихся капилляром с делениями на кубические миллиметры, в которые после центрифугирования собирались клетки водоросли. Центрифугирование велось 15 минут при числе оборотов около 4 000 (во всех опытах одинаковом). Результаты представлены в табл. 4.

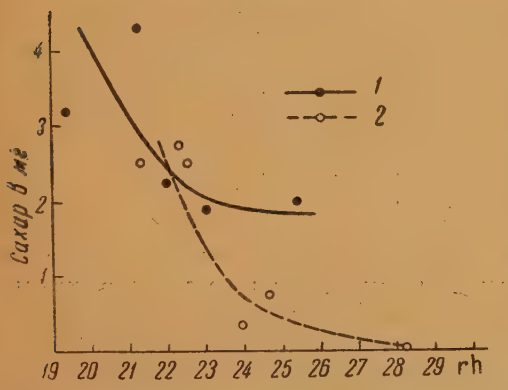


Рис. 1. Потребление сахара в миллиграммах на 1 мм³ массы клеток хлореллы при различных rh. *1* —в темноте; *2* — на свету

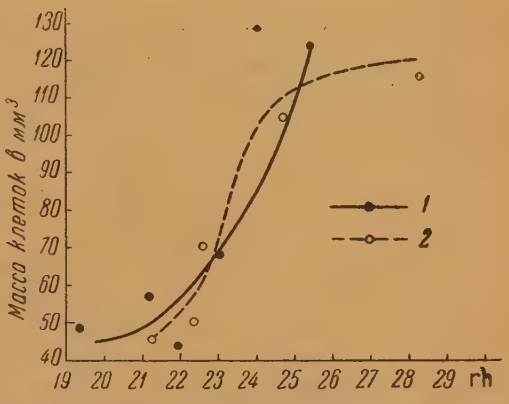


Рис. 2. Прирост массы хлореллы в мм³ на 25 мл при различных rh. *1* — в темноте; *2* — на свету

Из данных таблицы видно, что pH при развитии хлореллы в разных условиях аэрации, в темноте и на свету меняется одинаково: происходит небольшое подкисление среды. Окислительно-восстановительный потенциал в разных условиях аэрации различен. При продувании азота Eh колеблется в пределах от + 182 до + 255 mv. При продувании смеси азота с воздухом от + 243 до + 327 и при продувании кислорода от + 322 до + 425 mv. Если выражать окислительно-восстановительные условия посредством rh, то различия получаются менее резкие: 21—22 в азоте, 22—24 в азоте с воздухом и 24—28 в кислороде. Потребление сахара в более анаэробных условиях приблизительно одинаково в темноте и на свету. С увеличением степени аэрации потребление сахара в темноте становится больше по сравнению с потреблением сахара на свету. Это свидетельствует о том, что в анаэробных условиях хлорелла слабо фотосинтезирует. Фотосинтез усиливается с увеличением аэрации. Прирост клеток, определяемых как методом подсчета в камере Тома, так и методом определения массы, увеличивается с увеличением степени аэрации. При продувании кислорода прирост массы в пересчете на сосуд составляет 128,5 и 123,5 мм³ на свету, 115 мм³ в темноте; меньше

при пропускании смеси азота и воздуха: 105,5 и 70 на свету, 55,5 и 68 в темноте; и наименьший прирост в атмосфере азота: 45,7 и 50,2 на свету и 49,0 и 44,0 в темноте. Потребление сахара единицей массы, наоборот, наименьшее в сильно окисленной среде: 0,31 мг на свету и 1,98 в темноте, а наибольшее в атмосфере азота: 3,0 и 3,18 мг на свету и 3,26 и 2,56 в темноте. Изменение прироста массы клеток и потребление сахара единицей массы клеток в зависимости от rh показано на рис. 1 и 2. Можно видеть, что прирост резко увеличивается при повышении rh от 20 до 28. Это наблюдается в одинаковой степени на свету и в темноте. Потребление сахара с повышением rh, наоборот, уменьшается. При rh = 28 на свету оно падает до 0.

Эта перестройка обмена особенно демонстративна, если рассчитать, какой процент массы образуется за счет фотосинтеза и какой за счет потребления сахара при различных rh.

Расчет делается следующим образом.

Возьмем для примера опыт № 1 в азоте с воздухом.

Прирост массы в 25 мл	на свету	70 мм³
» » » 25 »	в темноте	57,5 »
Потребление сахара этой массой . .	на свету	180 мг
» » » » . .	в темноте	250 »

Далее, принимая, что весь прирост массы в темноте происходит за счет потребления сахара и что на свету за счет сахара образуется такая же масса, как в темноте, можно рассчитать процент массы, образовавшейся в результате автотрофного питания (фотосинтез) и гетеротрофного

57,5 мм³ образовались из 250 мг сахара
x мм³ » » 180 » »

$x = 41{,}4$ мм³ или 59% от образовавшейся на свету массы в 70 мм³. Этот расчет несколько приблизителен, так как основан на том уязвимом предположении, что в темноте и на свету масса образуется за счет сахара одинаково. Но во всяком случае этот расчет отражает изменения в обмене веществ, происходящие у хлореллы при изменении аэрации. Сделав такой расчет, мы получили следующие результаты, представленные в табл. 5.

Таблица 5

Соотношение авто- и гетеротрофного питания у хлореллы при разном rh

№ опыта	Газовая смесь	rh		Прирост массы в % за счет сахара
		на свету	в темноте	
1	$N_2 + CO_2$	21,2	19,3	92,0
2		22,3	21,9	100
1	N_2 + воздух + CO_2	22,5	20,7	59
2		24,6	23,0	39,8
1	$O_2 + CO_2$	23,9	25,3	15,6

Из приведенной таблицы видно, что в условиях относительно анаэробных хлорелла существует гетеротрофно: 92—100% прироста массы происходит за счет потребления сахара.

В условиях средней окисленности среды, в атмосфере смеси азота и воздуха оба способа питания осуществляются в одинаковом масштабе.

В сильно аэробных условиях, в атмосфере кислорода только 15,6% массы всех клеток образуется в результате усвоения сахара, а основная масса образуется за счет фотосинтеза.

Выводы

1. Хлорелла развивается во много раз лучше на сусле, чем на синтетической среде с сахаром.
2. Наиболее благоприятными для развития хлореллы являются низкие концентрации сусла 1—2° Балл.
3. В анаэробных условиях при rh = 13—18 хлорелла не способна к размножению, но сохраняет свою жизнеспособность, о чем свидетельствует потребление сахара и образование летучих и нелетучих кислот, а также способность клеток, выдержанных в анаэробных условиях 20 дней, образовывать колонии при высеве на чашке Петри.
4. Хлорелла размножается при rh от 19 до 28, создаваемых различной степенью аэрации.
5. Наибольшая масса накапливается при наибольшей аэрации, а потребление сахара в этих же условиях наименьшее.
6. В условиях низкого окислительно-восстановительного потенциала в среде хлорелла питается гетеротрофно. При средних значениях rh она питается в равной степени и гетеротрофно и автотрофно. При высоком окислительно-восстановительном потенциале хлорелла питается главным образом прототрофно, т. е. фотосинтезирует.

Московский государственный университет
Кафедра микробиологии

Получено 15.VII.1949

ЛИТЕРАТУРА

1. Артари А. К вопросу о влиянии среды на форму и развитие водорослей. Москва, 1903.
2. Артари А. Der Einfluss der Konzentration der Nahrlösungen auf die Entwicklung einiger grüner Algen. Jahrb. wiss. Bot., XLIII, H. 2, 1906.
3. Буткевич В. С. Über die Bildung der Glukon- und Citronensäure in den Pilzkulturen auf Zucker. Biochem. Z., **154**, 177, 1924.
4. Канель Э. С. Сравнительное исследование по механизму дыхательного процесса у двух близких рас Rhizopus nigricans в связи с дифференцировкой таллома и изменениями внешних условий. Микробиология, IV, 636, 1935.
5. Красина Н. Н. Физиология бактерий, разлагающих муравьиную кислоту с образованием газа. Микробиология, V, 669, 1936.
6. Кузнецов С. И. Сдвиги окислительно-восстановительных процессов у Aspergillus niger в связи с изменением потенциала среды. Микробиология, I, 30, 1932.
7. Шапошников В. Н. Техническая микробиология. Изд-во «Советская наука», Москва, 1947.
8. Шапошников В. Н. Задачи микробиологии в интенсификации бродильных производств. Микробиология, VIII, вып. 3—4, 1939.
9. Genevois L. Über Atmung und Gärung in grünen Pflanzen. Biochem. Z., **186**, 461, 1927.
10. Myers J. Oxidative assimilation in relation to photosynthesis in Chlorella. J. Gen. Physiol., **30**, No. 3, 1947.
11. Neuberg C., Hirsch J. Die dritte Vergärungsform des Zuckers. Biochem., Z., **100**, 304, 1919.
12. Simon E. Über das zymatische System und die Wirkungen der Essigbakterien. Biochem. Z., **294**, 253, 1930.

МИКРОСКОПИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ НЕФТЕНОСНЫХ ПЛАСТОВЫХ ВОД

Л. Д. Штурм

Первое микроскопическое исследование нефтей принадлежит Менделееву (1877) [9]. Оно имело целью выяснить, не содержатся ли в нефти остатки растительной и животной тканей. В 1902 г. Шейко [17] обнаружил бактерий в нефти и ее фракциях. Он придавал большое значение присутствию микроорганизмов в нефтях и полагал, что они окисляют углеводороды, питаясь за их счет.

По его мнению, эти микроорганизмы, названные автором микрококками, принимают также участие в образовании нефти, вызывая разложение растительных и животных остатков в недрах земли. Сообщение Шейко было опровергнуто Чугаевым [16], который не нашел микроорганизмов в нефтях и считал их присутствие там маловероятным ввиду того, что нефть обладает антисептическими свойствами.

Распространение микроорганизмов в нефтеносных горизонтах было окончательно установлено только в 1926 г. [1, 2, 15, 18, 19].

Однако в изучении микрофлоры нефтяных месторождений методы прямого микроскопического исследования почти не применялись. В развитии нефтяной микробиологии гораздо большее значение имели методы выделения и культивирования на искусственных питательных средах. Между тем микроскопическое исследование пластовых вод и пород помогло бы разрешить ряд важных вопросов о морфологических особенностях микрофлоры нефтяных месторождений, об их количестве, о специфичности микрофлоры отдельных горизонтов и пр. Нелишним будет вспомнить, что и до настоящего времени в печати высказываются сомнения в том, что микроорганизмы могут проявлять свою жизнедеятельность в недрах нефтяных месторождений [20].

Действительно, условия среды внутри нефтяной залежи представляют ряд резко выраженных особенностей, но это не исключает возможности существования микроорганизмов, а должно повлечь за собой развитие специфической микрофлоры. По имеющимся данным, пластовые воды содержат все соли, физиологически необходимые для микроорганизмов [11, 12, 21].

Известно также, что ни давление, ни температура внутри нефтяной залежи не могут служить причиной, препятствующей развитию бактерий. Органическое же вещество нефти может служить источником углерода [2, 13, 14].

Немногочисленные наблюдения под микроскопом над бактериями пластовых вод третичных нефтяных месторождений не дали пока указаний на морфологическое отличие их от современных видов [8]. Так, Исаченко [5], исследуя под микроскопом «розовую» пластовую воду из Надкермакинского пласта (НКП) свиты нижнего отдела продуктивной толщи в Сураханах, обнаружил в ней клетки серобактерий из рода Chromatium, широко распространенного в илах и в морской воде.

По этому поводу автор писал следующее: «Вообще в розовой воде находилось, повидимому, не малое число родов и видов пурпурных серобактерий из числа описанных Виноградским (1888), с одной стороны, и Molisch (1907) — с другой».

Далее автор указывает на то, что обычно в препаратах клеток Chromatium немного. Розовый же цвет воды происходит от пигмента, перешедшего в воду из разрушенных клеток.

Придавая большое значение непосредственному исследованию микрофлоры пластовых вод под микроскопом, мы воспользовались для этой цели фильтрованием воды через мембранные фильтры из нитроклетчатки, не пропускающие бактерий. Бактерии на фильтре фиксировались, окрашивались и рассматривались под микроскопом. Этот метод позволял определять количество бактерий в пластовых водах, не прибегая к выращиванию их на искусственных средах. Кроме того, он давал возможность ознакомиться с внешним видом микроорганизмов, свойственным им в природных условиях, что было очень важно для выяснения специфичности микрофлоры отдельных горизонтов.

Насколько мне известно, пластовые воды нефтяных месторождений этим методом не исследовались. Имеются лишь немногочисленные данные о количестве бактерий в артезианских и минеральных водах [6].

Приводимое ниже исследование микрофлоры пластовой воды нефтеносных районов Самарской луки проводилось в 1940 и 1948 гг. Пластовая вода Ишимбаевского, Туймазинского, а также Молотовского районов анализировалась в 1940 году.

Изучалась микрофлора пластовой воды из нефтеносных горизонтов различного геологического возраста: из отложений пермской системы, каменноугольной и девона с глубины от 600 до 1 400 м. Из отложений пермской системы исследовались смешанные воды из кунгурского и нижнеартинского ярусов Краснокамского района и из нижнеартинского яруса Ишимбаевского района; из осадочных пород каменноугольной системы — пластовые воды из нижнекаменноугольных отложений (горизонт $Б_2$) Сызранского, Туймазинского районов и из района Яблонового оврага; из девонских отложений — пластовые воды из верхнего девона Туймазинского района и нижнего и среднего девона из района Яблонового оврага.

Исследованные воды, по данным Иванова [4], отличаются высокой минерализацией.

Воды смешанного происхождения из кунгурского и артинского ярусов Краснокамского района автор относит к хлоридно-натрово-кальциеву типу; они содержат сероводород. По классификации Сулина [12] эти воды относятся к хлор-кальциевому типу.

Воды нижнеартинского горизонта Ишимбаевского района принадлежат к хлор-кальциевым и также содержат сероводород.

Воды угленосной толщи горизонта $Б_2$ Сызранского района и Яблонового оврага относятся также к хлор-кальциевым, но первые отличаются слабой сульфатностью, вторые — значительно более высокой минерализацией и повышенным содержанием сульфатов.

И те и другие содержат Br, J, B, NH_4^+ и H_2S. В горизонте $Б_2$ Яблонового оврага содержание Br, J, B и NH_4^+ выше.

Хлор-кальциевые воды угленосной свиты Туймазинского и Краснокамского районов более минерализованы, чем воды этого же горизонта Сызранского района. Кроме того, они отличаются отсутствием сероводорода.

Воды девонских нефтеносных горизонтов Яблонового оврага являются сходными с пластовой водой горизонта $Б_2$ этого же района, но не содержат сероводорода.

Экспериментальная часть

Пробы воды для микробиологического исследования брались в различных условиях. В 1940 г. в Сызранском районе оказалось возможным

взять только некоторые пробы из выкидной трубы, часть проб воды взята из мерника [1]. В 1948 г. все пробы пластовой воды брались из выкидной трубы.

В Туймазинском районе (1940) проба воды из нижнекаменноугольных отложений взята из мерника, из девона — аппаратом Яковлева, опущенным в открытую трубу скважины.

В Краснокамском районе (1940) смешанная вода из кунгурского и артинского ярусов бралась в стерильный сосуд, опущенный в трубу на глубину нескольких метров (скважина не эксплоатируется).

В районе Яблонового оврага (1948) все пробы воды взяты из выкидной трубы.

Воду набирали в стерильные сосуды с соблюдением по возможности асептических условий. Количественный подсчет бактерий в пробах производился на месте спустя несколько часов после взятия образца.

Из всех исследованных проб воды, при сохранении их в закрытых сосудах под слоем нефти, выделялся осадок.

По характеру осадка воды можно было разделить на две группы: 1) воды с черным осадком сернистого железа; 2) воды с осадком гидроокиси железа.

Воды первой группы содержали сероводород. К ним относится вода из угленосной свиты Сызранского района и пластовая вода из того же горизонта Яблонового оврага. Кроме того, к этой же группе относится вода из нефтеносных горизонтов артинских отложений (Краснокамский район и район Ишимбай). Ко второй группе относятся несероводородные воды из нижнекаменноугольных отложений Туймазинского района и пластовые воды из девона.

Методика

Для микроскопического исследования пластовые воды фильтровались через мембранные фильтры (№3) из нитроклетчатки, изготовленные Рублевской насосной станцией.

Фильтры помещали в прибор системы Дианової и Ворошиловой [3]. Для количественного подсчета бактерий фильтровали 1 мл воды через фильтр площадью около 0,6 см² (1948). В 1940 г. пользовались фильтрами большего диаметра (1,5—3 см) и фильтровали больший объем воды. Бактерии на фильтре фиксировались формалином и окрашивались эритрозином. Затем фильтры промывались дестиллированной водой, сушились и рассматривались под микроскопом в капле кедрового масла или из них приготовлялись препараты в канадском бальзаме (1940). В 1948 г. фильтры окрашивались без предварительной обработки формалином.

При подсчете бактерий пользовались сетчатым окулярным микрометром и вычисляли количество бактерий в 1 мл по формуле Разумова [10] $\frac{\pi R^2 10^8 b}{ace}$, где R обозначает радиус фильтрующей поверхности мембранного фильтра в сантиметрах, a — число полей зрения, b — число бактерий в a полях зрения, c — площадь поля зрения сетки в μ^2, e — количество профильтрованной воды в миллилитрах. В 1940 г. просматривалось 40—60 полей зрения на одном фильтре; в 1948 г. подсчитывали бактерий на двух фильтрах из одной пробы (по 20 полей зрения на каждом фильтре).

Применение этого метода к пластовым водам встретило ряд затруднений. Как указано выше, пластовые воды, извлеченные на поверхность, быстро выделяли осадок, который маскировал клетки бактерий. Это явление особенно резко наблюдалось при отборе проб в 1940 году.

Для удаления осадка фильтры приходилось обрабатывать разбавлен-

[1] Эти пробы отмечены знаком (×).

ной соляной кислотой. Следует отметить, однако, что обработка соляной кислотой не всегда достигала цели.

Еще большее затруднение при подсчете бактерий заключалось в том, что пластовая вода при фильтровании часто загрязняет фильтры нефтью.

В 1948 г. нам удалось получить значительно более чистые препараты на фильтрах, чем в 1940 г.

Следует отметить также и ряд других трудностей. Ввиду того, что фильтр имеет некоторую «глубину», формы бактерий не всегда вырисовываются вполне. Часто бывает трудно решить, лежат ли две клетки на некотором расстоянии друг от друга или это одна нитевидная, извитая форма, лежащая не в одной плоскости. Иногда нитевидные формы образуют густые сплетения, в которых невозможно различать отдельные особи.

Микроскопическое исследование пластовой воды

Качественное исследование микрофлоры пластовой воды на мембранных фильтрах дало следующие результаты.

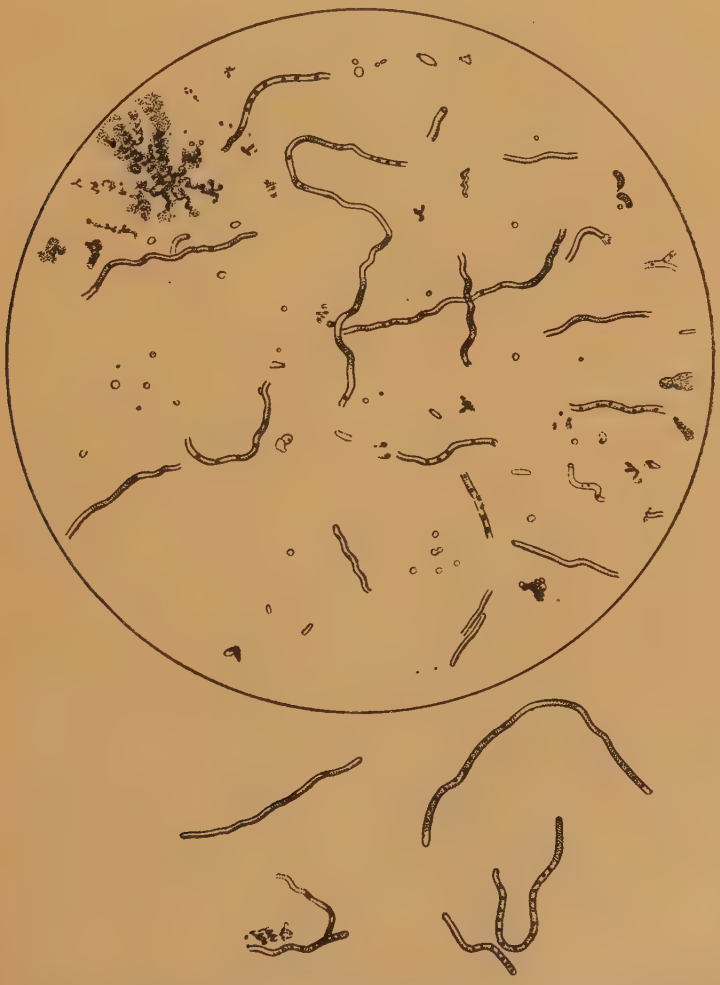


Рис. 1. Микроорганизмы из пластовой сероводородной воды нижнекаменноугольных отложений (горизонт $Б_2$, Сызрань, 1940). × около 2500

Сероводородные пластовые воды из нижнекаменноугольных отложений Сызранского района содержали большое количество микроорганизмов своеобразного внешнего вида. В препаратах 1940 г. преобладали длинные нитевидные бактерии, располагающиеся на фильтре свободно или образующие сплетения. Различаются нити тонкие диаметром 0,2—0,3 μ и более толстые — диаметром 0,35—0,5 μ (рис. 1 и 2). Длина нитей сильно колеблется. Тонкие нити среднего размера имеют 10—15 μ длины, но часто встречаются и значительно более длинные, достигающие 30 μ и более. Более толстые формы попадаются в несколько меньшем количестве; они короче и часто имеют вид коротких спирилл с одним-двумя завитками.

Большинство форм окрашивается эритрозином неравномерно. В них различаются яркоокрашивающиеся гранулы, располагающиеся беспорядочно или на более или менее одинаковом расстоянии друг от друга. Благодаря этому нити кажутся как бы разделенными поперечными перегородками. Во многих клетках можно видеть включение сернистого железа (в препаратах, не обработанных HCl). Местами хорошо заметно деление нитей перетяжкой. В меньшем количестве встречаются палочковидные и овальные клетки, вибрионы. В одном образце обнаружена тонкая спирохета диаметром около 0,2 μ и длиной 6,5—8 μ с 8—9 оборотами.

Отмечены также кокковидные формы (одиночно или цепочками диаметром 0,5—0,8 μ), нити с шарообразными вздутиями на конце, крупные шарообразные формы диаметром 2,6—2,85 μ. Палочковидные клетки очень часто содержат хромофильные зерна, располагающиеся биполярно.

Микроскопическое исследование пластовой воды Сызранского района, проведенное в 1948 г., дало несколько иные результаты (горизонт $Б_2$).

Как и в препаратах 1940 г., обращают на себя внимание нитевидные формы, но они встречались в значительно меньшем количестве, чем короткие клетки.

По поперечному размеру и по общему их виду можно также наметить два типа клеток: нити тонкие диаметром 0,25—0,3 μ и нити более толстые диаметром 0,88—1,25 μ. Первые достигают 20—25 μ длины, вторые 10 μ. Преобладают же тонкие палочки того же диаметра, как и тонкие нити. Более толстые клетки имеют часто форму вибриона или спириллы с одним или двумя завитками. Тонкие нити слегка волнообразно изогнуты или слабо искривлены. Почти все клетки содержат хромофильное вещество. В толстых и коротких клетках оно располагается в виде зерен различной формы или в виде поперечных полос. Микроорганизмы из пластовой воды сильно обводненных скважин[2] имели форму палочек. Нитевидные клетки встречаются очень редко (рис. 3). Хромофильные зерна встречаются в большом количестве и в тонких нитях и в тонких палочках.

Сероводородная пластовая вода из горизонта $Б_2$ Яблонового оврага содержала микрофлору сходную с микрофлорой $Б_2$ Сызранского района. Можно отметить лишь большее преобладание тонких форм.

В сероводородной пластовой воде из артинского яруса Ишимбаевского района содержится большое количество микроорганизмов в виде тонких, слегка изогнутых форм 0,2—0,3 μ шириной и 2,6—2,8 μ длиной (рис. 4, *а, б*). Лишь очень редко встречаются нити, достигающие 15 μ длины. Некоторые клетки имеют типичную форму спириллы с одним или полуоборотом завитка. В большом количестве встречаются также прямые или слабо искривленные палочки около 0,4 μ шириной, 1,3—2,5 μ длиной. Многие из них содержат хромофильные зерна, располагающиеся биполярно или у одного конца (рис. 4).

---

[2] Проба из этой скважины отмечена знаком (××).

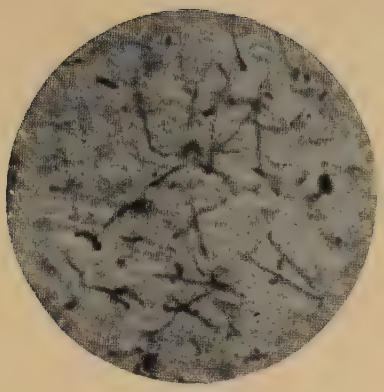


Рис. 2. Микроорганизмы из пластовой сероводородной воды нижнекаменноугольных отложений (горизонт $Б_2$, Сызрань, 1940). × около 2000

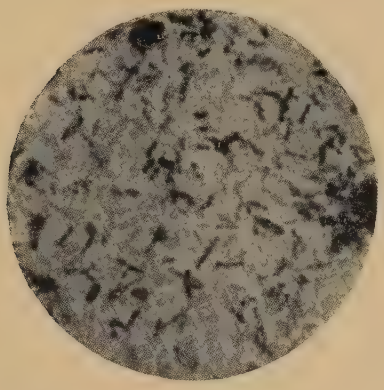


Рис. 3. Микрофлора из сероводородной пластовой воды нижнекаменноугольных отложений (горизонт $Б_2$, обводненная скважина, Сызрань, 1948). × около 1700

Рис. 8. Микрофлора пластовой воды, не содержащей сероводорода, из среднего девона (Яблоновый овраг, 1948). × около 1700

Сероводородная вода смешанного происхождения из нижнеартинских и кунгурских отложений Краснокамского района содержала микрофлору различного внешнего вида (рис. 5).

Прежде всего следует отметить довольно большое количество нитевидных форм в виде слабо изогнутых нитей, образующих тугие завитки или клубки. Диаметр нитей достигает 0,4—0,8 μ (рис. 5, *а*). Внутри нитей часто видны ярче окрашенные гранулы. Некоторые нити содержат сернистое железо.

Рис. 4

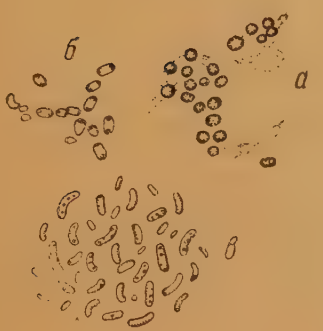


Рис. 6

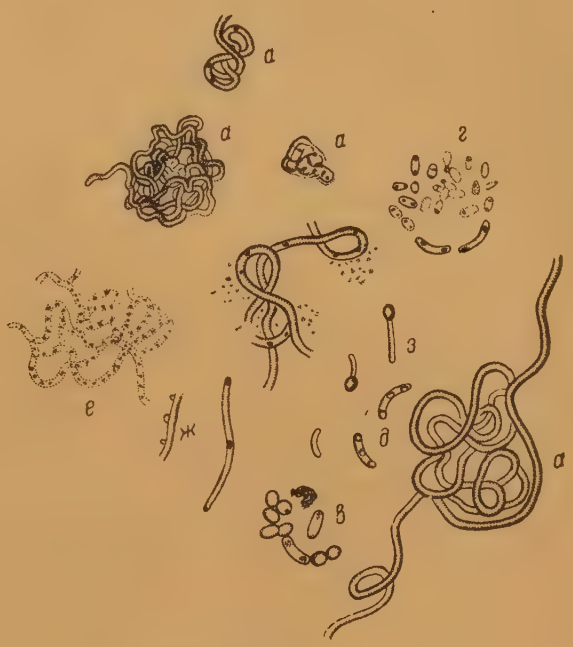


Рис. 5

Рис. 4. Микроорганизмы из пластовой сероводородной воды нижнеартинских отложений (Ишимбай). × около 2000

Рис. 5. Микроорганизмы из пластовой воды смешанного происхождения (из кунгурских и нижнеартинских отложений, Краснокамск)

Рис. 6. Микрофлора из пластовой воды, не содержащей сероводорода, из нижнекаменноугольных отложений (горизонт $Б_2$, Туймаза, 1940). × около 2000

Довольно часто попадаются «тени» (рис. 5, *е*) нитей с хорошо заметными яркоокрашивающимися гранулами. Также в большом количестве встречаются вибрионы, короткие овальные клетки и палочковидные слегка изогнутые формы с биполярной структурой (рис. 5 *г*, *в*); много уродливых, раздутых форм. Единично отмечены палочки с шарообразным утолщением на конце (рис. 5, *з*) (споровая форма?).

Как указывалось выше, пластовая вода у горизонта $Б_2$ Туймазинского района не содержит сероводорода. Микроскопическое исследование воды (1940, проба из мерника) показало, что в ней преобладают мелкие формы бактерий: палочки или овальные клетки несколько неправильных очертаний размером 0,3—0,5 μ × 1,0—2,5 μ (рис. 6 *б*, *в*). Большинство палочек слабо изогнуто. Кроме того, в препаратах встречаются тонкие и длинные нити около 0,3 μ диаметром. На нитях часто видны круглые или овальные яркоокрашивающиеся формы. Связаны ли эти формы с нитью или они являются самостоятельными организмами, решить по препарату нельзя (рис. 6, *а*).

В пластовой воде из верхнего девона, не содержащей сероводорода (Туймазинский район, 1940), преобладают короткие формы бактерий (рис. 7). В небольшом количестве попадаются тонкие нити, не превышающие 8—10 μ длины.

Рис. 7. Микрофлора из пластовой воды, не содержащей сероводорода, из верхнего девона (Туймаза, 1940). × около 2500

Следует отметить, что подсчет бактерий и описание их внешнего вида по препаратам на фильтрах в пластовой воде из Туймазинского района было особенно затруднительным вследствие того, что клетки очень плохо окрашивались, несмотря на удаление железа.

Исследование пластовой воды из девонских отложений Яблонового оврага, проведенное в 1948 г., дало следующие результаты.

Таблица 1

Формы бактерий в пластовых водах из различных горизонтов

Район	Горизонт	H_2S	Форма бактерий	Система
Краснокамский	Kg + Art	Содержится	Нитевидные формы в виде слабоизогнутых спирилл или в виде спиралей со многими завитками. Нити, образующие клубки или сплетенные жгутом. Вибрионы, овальные или палочковидные клетки	Пермская
Ишимбай	Art	»	Короткие спириллы, вибрионы. Нитевидные формы редко. В небольшом количестве палочковидные клетки	
Сызранский	$C_1^h/Б_2$	»	Тонкие нитевидные бактерии и более толстые формы в виде спирилл с 1—2 завитками. Вибрионы. Спирохета (единично). Палочковидные клетки (в небольшом количестве в препаратах 1940 г. и в большом — в препаратах 1948 г.)	Каменноугольная
»	$C_1^h/Б_2$	»	Прямые и слабоизогнутые палочки составляют массовые формы (1948 г). В небольшом количестве спириллы и нити (××)	
Яблоновый овраг	$C_1^h/Б_2$	»	Микрофлора, сходная с таковой горизонта $Б_2$ Сызранского месторождения. Преобладают вибрионы и палочки	
Туймаза	$C_1^h/Б_2$	Не содержится	Палочковидные формы составляют основную массу бактерий (×)	
Яблоновый овраг	D_3	»	Мелкие палочки и овальные клетки	Девонская
	D_2	»	Почти исключительно тонкие палочки	
	D_1	»	Нитевидные формы в небольшом количестве, преобладают палочки	

Основную массу микроорганизмов в препаратах на фильтрах составляют тонкие палочки 0,2—0,35 μ шириной и около 5 μ длиной (рис. 8).

Нитевидные клетки встречаются редко. Более толстые палочки и спириллы, отмеченные в препаратах из сероводородных пластовых вод горизонта $Б_2$ этого же месторождения, не были обнаружены. Для сравнения форм бактерий из различных горизонтов данные морфологических наблюдений приводятся в виде таблицы (табл. 1).

Количественный подсчет микроорганизмов

Количественный подсчет бактерий на мембранных фильтрах дал следующие результаты. Количество бактерий во всех исследованных образцах оказалось очень значительным (табл. 2).

В Сызранском районе, по данным 1940 г., в пробах воды из горизонта $Б_2$, взятых из выкидной трубы, оно колебалось от 24 тысяч до 50 тысяч в 1 мл. Количество бактерий в пробе из мерника оказалось значительно выше и составляло 333 тысячи в 1 мл. Ввиду того, что вода в мернике сохранялась двое суток, возникло предположение, что за это время количество бактерий могло увеличиться. Для проверки этого предположения был произведен количественный подсчет бактерий в пробе воды, непосредственно взятой из выкидной трубы в той же пробе спустя три месяца (проба сохранялась под слоем нефти при комнатной температуре). Как видно из таблицы, количество бактерий возросло за этот период с 24 тысяч до 754 тысяч. Таким образом, высокое число бактерий в пробе из мерника объясняется развитием их в условиях хранения пластовой воды.

Количественный подсчет бактерий в пластовых водах из горизонта $Б_2$ Сызранского района, произведенный в 1948 г., дал значительно более

Таблица 2

Количество бактерий в 1 мл пластовой воды 1940 г.

Район	Горизонт	Количество бактерий в тысячах
Сызранский	$Б_2$	32
»	$Б_2$	24
		754 *
»	$Б_2$	333(×)
»	$Б_2$	50
Туймазинский	$Б_2$	313(×)
»	$Д_3$	606
Ишимбай	Нижнеартинский	125
Краснокамский	Кунгурский + нижнеартинский	42

* Количество бактерий в пробе воды спустя три месяца после взятия образца, Вода сохранялась под слоем нефти.

высокие числа, чем в 1940 г. Содержание бактерий в пластовых водах из скважин, расположенных в контуре нефтеносности центральной структуры, колебалось от 173 тыс. до 629 тысяч на 1 мл (табл. 3). В контурной скважине оно достигало 7 млн. в 1 мл. Еще более высокое содержание бактерий установлено в пластовой воде из горизонта $Б_2$ в районе Яблонового оврага: от 1 до 6 млн.

Содержание бактерий в пластовых сероводородных водах пермских отложений, по данным 1940 г., составляло 125 тысяч в 1 мл (Ишимбай) и 34 тысячи (Краснокамск) (табл. 2).

Количество бактерий в несероводородных пластовых водах оказалось также высоким. В пластовой воде из горизонта $Б_2$ нижнекаменноугольных отложений Туймазинского района (1940) оно составляло 313 тысяч в 1 мл, в пластовой воде из верхнего девона этого же района — 606 тысяч. Еще более высокие цифры были получены в 1948 г. Так, в пластовой воде из нижнего девона (табл. 3) количество бактерий в 1 мл составляло 4355 тысяч, из среднего девона — 1600 тысяч.

Таблица 3

Количество бактерий в 1 мл пластовой воды 1948 г.

Район	Горизонт	Положение скважины	Количество бактерий в 1 мл в тысячах			Примечание
			фильтр 1-й	фильтр 2-й	среднее количество	
Сызранский	$Б_2$	Приконтурная	227	252	264	
»	$Б_2$	»	180	176	173	
»	$Б_2$	Купольная	679	580	629	
»	$Б_2$	Приконтурная	357	110	—	2-й фильтр загрязнен нефтью
»	$Б_2$	Контурная	7 900	419	—	
»	$Д_1$	»	5 140	3 570	4 355	
Яблоновый овраг	$Д_2$	»	1 200	2 000	1 600	
То же	$Б_2$	Приконтурная	1 150	850	1 000	
» »	$Б_2$	»	6 000	7 170	6 585	
» »	$Б_2$	Контурная	1 380	241	—	2-й фильтр загрязнен

Обсуждение результатов

Большое количество бактерий, обнаруженное во всех нефтеносных пластовых водах, указывает на важное значение микробиологических процессов в нефтяных месторождениях.

Если мы сравним содержание бактерий в пластовых водах и в водах современных бассейнов, то увидим, что в сероводородных пластовых водах как пермских, так и нижнекаменноугольных отложений оно выше, чем в олиготрофных водоемах. Количество бактерий в последних, по данным Кузнецова, колеблется в пределе 100—200 тысяч в 1 мл [7].

Содержание бактерий в сероводородной пластовой воде горизонта $Б_2$ в Яблоновом овраге заметно выше, чем в Сызранском районе. Эти пластовые воды, так же как и несероводородные воды из среднего и нижнего девона, по количеству бактерий можно сравнить с водой слабосоленоводных евтрофных современных водоемов. По данным указанного автора, количество бактерий в последних составляет несколько миллионов в 1 мл.

Сопоставляя результаты количественного подсчета бактерий в пластовых водах в 1940 и 1948 гг., можно видеть, что цифры 1948 г. значительно выше. Это объясняется отчасти тем, что в 1948 г. нам удалось получить более чистые препараты на фильтрах, не загрязненных нефтью. Не исключается, однако, возможность, что количество бактерий в нефтеносных горизонтах повысилось за этот период времени. Если принять во внимание, что при эксплоатации в скважины поступает кислород [8], то это предположение приобретает большую вероятность.

Подсчет бактерий дал пеструю картину распределения микроорганизмов в пластовой воде, которая отражает, вероятно, сложную геохимическую обстановку.

На основании исследований 1948 г. можно было бы высказать предположение, что в пластовой воде из купольной части структуры количество бактерий выше, чем в приконтурной. Однако это единичное наблюдение нуждается в подтверждении. В двух случаях количество бактерий в контурных скважинах оказалось очень высоким.

Что касается внешнего вида бактерий пластовых вод, то пока нет достаточного материала, чтобы говорить о приуроченности той или другой морфологической формы к определенному стратиграфическому горизонту.

Можно лишь отметить влияние процесса восстановления сульфатов на характер микрофлоры пластовых вод. Как правило, сероводородные пластовые воды характеризуются большим количеством вибрионов, спирилл и нитевидных форм; несероводородные — палочковидными клетками, хотя и в них в небольшом количестве встречаются тонкие нитевидные бактерии. Тем не менее, как отмечалось выше, морфологическая картина на препаратах, полученных при фильтровании сероводородных пластовых вод из различных по возрасту горизонтов, несколько отличалась одна от другой. Так, в пластовой воде из нижнеартинских отложений Ишимбаевского района преобладали короткие спириллы (рис. 4) и вибрионы; в смешанной воде из нижнеартинских и кунгурских отложений обращает на себя внимание нитевидная форма, образующая клубки или тугие завитки (рис. 5).

Для пластовой воды горизонта $Б_2$ нижнекаменноугольных отложений характерны длинные, тонкие и более толстые нитевидные формы (рис. 1 и 2).

Возникает вопрос: принадлежат ли эти формы разным микроорганизмам или они соответствуют различным стадиям развития одного организма? Подробное изучение бактерий, восстанавливающих сульфаты, выделенных из различных горизонтов, может осветить этот вопрос. В настоящее время нами установлено, что бактерия, восстанавливающая сульфаты, выделенная из нижнекаменноугольных отложений Сызранского района, давала следующие формы в различных стадиях развития культуры: палочка, вибрион, спирилла, нить, скрученная жгутом, и нить, образующая клубок.

Это не исключает, конечно, возможности, что бактерии, восстанавливающие сульфаты, распространенные в отложениях различного геологического возраста, окажутся разными по физиологическим свойствам.

Резкое морфологическое отличие бактерий пластовой воды из обводненной скважины (горизонт $Б_2$, Сызранский район) от микрофлоры воды из других скважин этого же района объясняется, повидимому, развитием посторонней микрофлоры.

Судя по препаратам на фильтрах, можно думать, что сульфатвосстанавливающие бактерии представлены двумя формами: а) тонкой нитевидной формой и б) более толстой, имеющей форму спириллы или вибриона; эти формы в большом количестве встречаются в сероводородных водах.

Никаких других организмов, кроме бактерий, в пластовых водах не обнаружено.

В заключение мне хотелось бы отметить, что проведенное исследование фиксирует лишь отдельные картины развития микрофлоры нефтеносных горизонтов, соответствующие геохимической обстановке данного момента.

Рисунки бактерий с мембранных фильтров сделаны Л. Ф. Мелешко, за что выражаю ей свою искреннюю признательность.

В работе 1948 г. принимал участие студент 4-го курса Московского госуниверситета Ю. И. Сорокин.

Представленное исследование является результатом работы микробиологического отряда Поволжской экспедиции Института горючих ископаемых 1940 г. и экспедиции Института нефти 1948 г.

Выводы

1. Большое количество микроорганизмов, обнаруженное прямым методом в пластовых водах из различных нефтеносных горизонтов, указывает на важное значение микробиологических процессов в нефтяных месторождениях.

2. Содержание бактерий в пластовых водах из разных стратиграфических горизонтов, а также в пластовой воде из скважин в различных частях структуры сильно вариирует.

Полученные данные, однако, еще недостаточны для того, чтобы сделать заключение о закономерном изменении чисел.

3. Сероводородные пластовые воды характеризуются присутствием длинных, тонких нитевидных форм, а также более толстых форм в виде вибрионов или спирилл.

4. Несероводородные пластовые воды в подавляющем количестве содержат короткие формы бактерий.

5. На основании микроскопического исследования можно сделать предположение, что в сероводородных пластовых водах находятся две различные формы бактерий, восстанавливающих сульфаты.

6. Не исключается возможность, что с помощью прямого микроскопического исследования пластовой воды можно обнаружить изменения в водном режиме скважин.

Институт микробиологии
Академии Наук СССР
Москва

Получено 1. III. 1949

ЛИТЕРАТУРА

1. Гинзбург-Карагичева Т. Л. Микробиологическое исследование серносоленых вод Апшерона. Азербайджанское нефтяное хозяйство, № 6—7, стр. 30, 1926.
2. Гинзбург-Карагичева Т. Л. Очерки микробиологии нефти. ОНТИ НКТП СССР, 1936.
3. Дианова Е. и Ворошилова А. Ультрафильтры для бактериологических исследований. Микробиология, I, вып. 3, 1932.
4. Иванов А. П. К вопросу о химизме вод нефтяных месторождений. Советская геология, № 10, стр. 83, 1940.
5. Исаченко Б. Л. Пурпурные серобактерии с нижних границ биосферы. Сборник, посвященный В. Л. Комарову. Изд. АН СССР, 1939.
6. Кузнецов С. И. Сравнительная характеристика микрофлоры воды мацестинских и агурских источников. Микробиология, VII, 316, 1938.
7. Кузнецов С. И. Применение микробиологических методов для изучения органических веществ в водоемах. Микробиология, XVIII, 203, 1949.
8. Малышек В. Т. и Малиянц А. А. Серобактерии в «розовых» водах Сураханского нефтяного месторождения и их значение в геохимии вод. ДАН СССР. Новая серия, т. III, № 5—6, стр. 221, 1935.
9. Менделеев Д. И. Нефтяная промышленность в Северо-Американском штате Пенсильвании и на Кавказе, стр. 236, СПб, 1877.

10. Разумов А. С. Прямой метод учета бактерий в воде. Микробиология, I, 131, 1932.
11. Сулин В. А., Гогитидзе К. Д., Блинков М. И., Варов А. А. и Гуляева Л. А. Материалы по геологии, гидрологии и разведочным работам Верхне-Чусовского района Уральской области. ОНТИ НКТП СССР, М.—Л., 1933.
12. Сулин В. А. Воды нефтяных месторождений СССР. ОНТИ НКТП СССР, М.—Л., 1935.
13. Таусон В. О. и Веселов И. Я. О бактериях, разлагающих циклическое соединение при восстановлении сульфатов. Микробиология, III, 360, 1934.
14. Таусон В. О. Восстановление сульфатов бактериями в присутствии углеводородов. Микробиология, I, 229, 1932.
15. Ушинский Н. Г. К вопросу о происхождении серных вод на побережьи Каспийского моря. Азербайджанское нефтяное хозяйство, № 8—9, стр. 83, 1926.
16. Чугаев А. А. Заметка о предполагаемом бактериальном населении нефти. Тр. Русского технич. об-ва, вып. 4, стр. 348, 1902.
17. Шейко В. Опыт бактериологического исследования нефти. Нефтяное дело, № 7, стр. 402, 1901.
18. Bastin E. S. The presence of sulfate-reducing bacteria in oil field waters. Science, **63**, 21, 1926.
19. Bastin E. S., Anderson B., Green F. R., Meritt C. A. and Moulton. The problem of the natural reduction of sulfates. Bull. Amer. Ass. Petr. Geol., **10**, 1270, 1926.
20. Cox Ben B. Transformation of Organic Material into Petroleum under Geological Conditions. Bull. Amer. Ass. Petrol. Geol., **30**, 561, 1946.
21. Palmer Chase. Phosphorus in California Petroleum. Economic Geology, XVII, **100**, 1922.

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ДРОЖЖЕВЫХ И ДРОЖЖЕПОДОБНЫХ ГРИБКОВ В ОЗЕРАХ

А. Г. Родина

Между характером водоема, условиями этой природной среды и развивающейся в ней микрофлорой существует тесная связь. Характер водоема определяет самую возможность развития в нем тех или иных групп микроорганизмов. Численность и активность различных физиологических групп микробов зависят от условий среды и от взаимодействия с другими организмами: от наличия или отсутствия антагонистов, от благоприятного влияния совместного развития разных групп и от наличия животных, питающихся микробами. Одной из задач современной гидробиологии является изучение взаимосвязи между организмами и средой. Гидробиология понимается в настоящее время как «комплексная биологическая наука, имеющая своим объектом единство водных организмов и среды, изучающая биологическую продуктивность водоемов через продуктивность водных организмов...» (Жадин, [2]).

Среди разнообразного мира микробов, населяющих водоемы, обширная группа дрожжей и дрожжеподобных грибков относится к тем, выяснение распространения которых в пресных водоемах, можно сказать, еще не начато. На необходимость изучения возможности для дрожжей развиваться в водоемах указывал Исаченко [4] еще в 1914 г. Наши знания по этому вопросу, однако, с тех пор почти не расширились, особенно в отношении пресных водоемов. Несколько больше известно о распространении дрожжей в морях в работах Исаченко [4] и ZoBell [15], где имеются и описания выделенных видов. По пресным же водоемам нет данных ни о видовом составе дрожжей, ни об их экологии, ни об их биомассе.

При исследовании пищевого значения микробов для различных представителей планктона и бентоса мы обнаружили, что дрожжевые грибки в природных условиях являются одним из компонентов пищи этих животных. Из содержимого кишечников как различных Cladocera, так и многих видов моллюсков и личинок тендипедид нами были выделены разнообразные дрожжи; заглатывание дрожжевых клеток водными животными было констатировано и прямым микроскопическим исследованием пищевого материала из передних отделов кишечников.

Пищевое значение дрожжей (водных форм) для различных водных животных было выяснено и экспериментальным путем (Салимовская-Родина [12]; Родина [8, 9]). Дрожжи, накапливающие в своих клетках белковые вещества, углеводы, жиры и витамины, оказались высокопитательной пищей для всех исследованных животных. При выяснившейся роли этих микроорганизмов в питании водных животных вопрос об их распространении в водоемах приобретает существенное значение.

Целью настоящей работы было выяснить распространение и количественное содержание дрожжей и дрожжеподобных грибков в пресных водоемах.

Работа была проведена летом 1947 г., весной, летом и в начале осени 1948 г. на ряде озер Залучья (Калининская область). Кроме озер, пробы были взяты в Вышневолоцком водохранилище и в р. Шлине.

Исследованные озера (за исключением дистрофного оз. Черного и являющегося совершенно своеобразным водоемом оз. Пиявочного) могут быть отнесены к группе мезотрофных, хотя они и несколько отличны одно от другого. Озера в разной степени заилены и по степени заиления могут быть расположены в следующем порядке: Пиявочное, Бельское, Коломенское, Островно, Клин, Имоложье и Островки. Различна морфометрия этих озер, неодинаковы грунты, у некоторых из них отличен и кислородный режим (оз. Островно, Пиявочное). Описание этих озер дано в «Трудах Лимнологической станции в Косине» (1938, доп. вып. 1), в работах Л. Д. Штурм [13] и др.

Для определения содержания дрожжей и дрожжеподобных грибков был использован метод разливок. Средой для посевов служил сусло-агар, а в некоторой части работы был параллельно использован агар, на иловой вытяжке с глюкозой. Счет, однако, везде был проведен на сусло-агаре.

Метод разливок, как хорошо известно, обладает рядом недостатков. Так выяснено, что при переносе клеток микробов в новую среду лишь часть клеток бывает способна развиваться в новых условиях. Развитие в посевах в параллельных культурах не бывает вполне аналогичным. Известно также, что для обеспечения роста многих видов дрожжей надо брать значительные количества посевного материала. Поэтому не исключена возможность, что отдельные клетки могут не прорасти. Из скопления вырастает одна колония, как и из одной клетки. Эти недостатки метода следует иметь в виду при рассмотрении полученных данных по содержанию дрожжей в водоемах. Кроме того, сусло-агар является прекрасной средой для развития плесневых грибков; часто рост дрожжей подавлялся более ранним пышным развитием водных плесневых грибков, и приходилось констатировать «отсутствие» роста искомых микроорганизмов.

Посевы производились как водой, так и грунтами и смывами с растений, собранных в каждом озере. Всего было взято 147 проб воды, 67 проб грунтов и 235 проб растительности. Для взятия проб воды был использован специальный прибор со стерильными склянками, для взятия проб грунтов — лот и дночерпатель. Пробы растительности брались следующим образом: ножницами, фламбированными на огне, отрезался кусочек листа, стебля или цветка и с помощью стерилизованного пинцета погружался в цилиндрик, содержащий 10 мл стерильной воды. После 10-минутного встряхивания кусочка растения в воде полученной суспензией производились посевы.

Все посевы производились немедленно по возвращении на берег. Дрожжи обнаруживались путем микроскопических просмотров выросших колоний.

Дрожжи и дрожжеподобные грибки были обнаружены во всех исследованных водоемах. Содержание их было неодинаково в различных озерах.

В распределении дрожжей и дрожжеподобных грибков в водной толще озер могла быть отмечена следующая закономерность: в отдаленных от берега частях озер эти микроорганизмы были находимы реже и в меньших количествах, чем в прибрежной зоне, и особенно в зоне зарослей.

Дрожжи и дрожжеподобные грибки были найдены в водной толще всех озер (табл. 1).

В большинстве случаев количества более 6—10 были получены в итоге развития однородных колоний одного вида.

Гораздо богаче дрожжами и дрожжеподобными грибками грунты. Содержание их в грунтах зависит как от характера самого грунта, так и от общих условий водоема. Так обнаружилась та же закономер-

Таблица 1

Место взятия проб	% проб, где обнаружены дрожжи и дрожжепод. грибки	Колич. дрожжей и дрожжеподобных грибков в 1 мл
Оз. Клин	90	2—38
» Коломенское	66	1—79
» Бельское	82	1—29
» Имоложье	70	2—23
» Островки	74	1—19
» Островно	73	1—12
» Мстино	80	1—4
» Шитовское	68	1—2
» Черное	90	3—6
Вышневолоцкое водохранилище	42	1—4
р. Шлина	90	1—5

ность, что и в распределении бактерий: песчаные грунты беднее дрожжами и дрожжеподобными грибками, чем грунты илистые.

Наиболее богатыми дрожжами оказались грунты оз. Клин и оз. Имоложье. Озеро Клин представляет собой мелкий водоем, огромная часть которого покрыта водной растительностью. Один из плесов озера (Озеряевка) полностью зарос макрофитами: главным образом кувшинкой и кубышкой, рдестами и элодеей. Этот плес, за исключением узкой прибрежной песчаной полосы, покрыт коричневатыми илами. Вода в нем (слоем 0,5—0,8 м) в летнее время пересыщена кислородом. В грунтах этого плеса были обнаружены высокие количества дрожжей. В чашках Петри при посеве в сусло-агар 0,1 мл иловой болтушки развивалось до 815 однородных колоний (видов Rhodotorula или Torulopsis). В пересчете на сухой грунт было получено до 549 тыс. на 1 г. Принимая во внимание размеры дрожжевых клеток, следует признать, что биомасса их в этих грунтах значительна. В илах глубоких впадин других плесов оз. Клин содержание дрожжей и дрожжеподобных грибков колебалось от 825 до 42 700 на 1 г сухого грунта. Песчаные грунты прибрежной зоны содержали всего не более 150 клеток на 1 г сухого грунта.

Характерным для всех грунтов было развитие большого числа однородных колоний, при микроскопическом просмотре которых были обнаруживаемы и морфологически одинаковые клетки. Это обстоятельство указывало на образование в грунтах скоплений дрожжей и дрожжеподобных грибков.

Грунты оз. Имоложье (с глубины от 0,3 до 6 м) в глубинной зоне — темнокоричневые илы — содержали огромные скопления дрожжей. В посевах одной из проб было получено развитие 32 тыс. однородных колоний (вида Rhodotorula), что дало в пересчете на сухой грунт 1 333 тыс. клеток дрожжей на 1 г. Количество дрожжевых клеток в грунтах глубинной зоны колебалось в пределах от 6 920 до 1 333 тыс. (на 1 г сухого грунта). Песчаные грунты прибрежной зоны дали и в оз. Имоложье невысокие цифры — от 80 до 140 на 1 г сухого грунта. К сожалению, в этом озере не могли быть взяты по техническим причинам пробы с глубин более 6 м, т. е. в тех центральных впадинах, где у дна отмечается дефицит кислорода.

Грунты оз. Островки, связанного с оз. Имоложье и сходного с ним по характеру,— коричневые илы, богатые органическими веществами, обнаружили высокие цифры содержания в них дрожжевых клеток — от 16 тыс. до 302 тыс. на 1 г сухого ила.

Озеро Островно отличается от предыдущих озер тем, что в нем летом наблюдается резко выраженная стратификация, гиполимнион имеет низкую температуру воды (не выше 9—10°) и низкое содержание кислорода (не выше 4—8% от насыщения). Несмотря на богатство илов этого озера органическими веществами, в грунтах центральной части были найдены лишь сотни дрожжеподобных грибков на 1 г сухого ила. Заиленные песчано-глинистые грунты зоны зарослей содержали большие количества дрожжей и дрожжеподобных грибков — до 24 тыс. на 1 г сухого грунта, а песчаные грунты зоны мелководья — лишь десятки.

Распределение дрожжей и дрожжеподобных грибков в грунтах оз. Коломенского довольно однородно, хотя с некоторыми небольшими колебаниями. При благоприятном кислородном режиме озера и богатстве донных отложений органическими веществами илы оз. Коломенского значительно беднее этими микроорганизмами, чем донные отложения рассмотренных выше озер. Содержание дрожжей в грунтах оз. Коломенского было выше всего в зонах зарослей, но и здесь оно не превышало 9160 на 1 г сухого грунта. В открытой части озера были получены числа от 120 до 786 на 1 г сухого грунта. Песчаные грунты мелководья еще беднее клетками дрожжей,— здесь их были найдены всего десятки на 1 г.

В оз. Шитовском грунты глубинной зоны (черные илы) бедны дрожжевыми грибками — содержание их здесь составляет всего десятки на 1 г грунта. Песчано-каменистые грунты прибрежной зоны заключают в себе незначительные количества этих микроорганизмов. Несколько богаче ими иловатые грунты, более отдаленные от берега (до 985 на 1 г сухого грунта).

В оз. Мстино были взяты лишь три ориентировочные пробы по одной линии — от берега к середине озера. Содержание клеток дрожжей и дрожжеподобных грибков во взятых пробах оказалось довольно высоким — от 13 750 до 37 тыс. на 1 г сухого грунта.

В заиленных песчаных грунтах Вышневолоцкого водохранилища (где пробы были взяты недалеко от лесопильного завода и огромных скоплений древесины в воде) было найдено от 12 500 на 1 г сухого грунта до огромных скоплений, не позволявших произвести счет в чашках, где наблюдался сплошной рост.

В оз. Черном — в торфянистых песчаных грунтах прибрежной зоны (глубинные пробы не брались) были обнаружены почти исключительно дрожжеподобные грибки. В пересчете на сухой грунт были получены цифры — 1040—1120 на 1 г.

Эти микроорганизмы обитают и в песчаных слабо заиленных грунтах р. Шлины. Число их здесь, однако, невелико — от 90 до 1050 на 1 г.

Всего беднее исследуемыми микроорганизмами грунты оз. Пиявочного (от 0 до 80 на 1 г), причем представлены они были исключительно дрожжеподобными грибками.

Отсутствие или ничтожное содержание дрожжевых грибков в оз. Пиявочном вызывает вопрос о причинах этого явления. Оз. Пиявочное является водоемом, в котором имеет место очень высокое накопление иловых отложений, богатых органическими веществами. Толщина слоя иловых отложений в оз. Пиявочном достигает 7—8 м, над ними находится лишь небольшой слой воды — всего около 0,5 м. Жадин [3] указывает, что при переходе степени аккумуляции «через некоторую критическую точку... следует понижение биологической продуктивности, доходящей в случае гипераккумуляции до нуля».

Считают, что причиной бедности бентоса в донных отложениях оз. Пиявочного является заиление озера. Последствиями заиления являются: изменение придонного режима, возрастание количества рас-

творенного органического вещества и количества сухого остатка воды, изменение кислородного режима, накопление у дна углекислоты — все факторы, отрицательно влияющие на донных животных. Указанные условия в иловых отложениях оз. Пиявочного, повидимому, не являются благоприятными для дрожжевых грибков, несмотря на богатство этих отложений органическими веществами.

В этих колоссальных скоплениях органических веществ протекает процесс их минерализации. Биологический процесс минерализации органических веществ является самым сложным комплексом проявлений жизнедеятельности разнообразнейших микробов, взаимно обуславливающих активность и процветание друг друга. В оз. Пиявочном условия разложения отложений органического вещества, несомненно, весьма своеобразны и обусловлены как характером его распределения — мощным слоем, так и накоплением продуктов распада. Грунты оз. Пиявочного — это область деятельности разнообразных бактерий, актиномицетов и различных плесневых грибков, вырабатывающих сложные продукты обмена, которые в условиях этого озера не удаляются, не вымываются из мест своего образования, а накапливаются, как бы «консервируя» эти отложения. На необходимость учета воздействия продуктов диссимиляции на развитие в грунтах различных групп бактерий указывал Омелянский [6].

Доступ кислорода к скоплениям основной массы органического вещества даже в летнее время при благоприятном кислородном режиме озера, несомненно, ограничен тонким поверхностным слоем, ниже находится область восстановительных процессов. По данным Экзерцова [14], в илах оз. Пиявочного обрастание стекол происходит всего до глубины 3,5 см. В зимнее время для оз. Пиявочного характерны дефициты кислорода и полное отсутствие его у дна. Все эти условия, очевидно, не являются благоприятными для развития дрожжей в донных отложениях этого озера.

Следует отметить, что по зольности и по составу органического вещества иловые отложения озер Клин, Имоложье, Островно, оказавшиеся богатые дрожжами, очень близки между собой, как это следует из анализов, проведенных Кузнецовым, Сперанской и Коншиным [5]. Эти авторы составили таблицу распределения озер по группам в зависимости от содержания общего углерода и легкоусвояемого азота. И в этой таблице все четыре названных выше озера включены в одну группу. Сходство условий имеет следствием и сходство в распределении и содержании микробов.

Озеро Пиявочное в этой таблице стоит также особняком. Иловые отложения его богаче всех других исследованных Кузнецовым, Сперанской и Коншиным 44 озер и углеродом и азотом. Промежуточные места в таблице занимают грунты озер Черного и Коломенского. Бедны углеродом и легко усвояемым азотом грунты оз. Шитовского. Зольность грунтов озер Клин, Имоложье, Островки и Островно (по данным названных выше авторов) также очень близка (соответственно: 63,8; 64,3; 70,3; 67,6 в процентах на абсолютно сухую навеску), тогда как зольность иловых отложений оз. Коломенского равна 55,0, оз. Шитовского — 53,4, оз. Черного — 10,5 и оз. Пиявочного — 10.

Рассмотрение полученных данных по содержанию дрожжевых и дрожжеподобных грибков в иловых отложениях озер и данных химических анализов этих отложений [5] показывает, что состав этой среды, ее условия имеют большое значение для развития этих микроорганизмов и определяет их биомассу. Большое количество дрожжей и дрожжеподобных грибков находится в обрастаниях, в ассоциации с высшими водными растениями. Грибки были обнаружены на подавляющем большинстве растений, взятых для исследования. Из общего числа 235 проб растительности дрожжи и дрожжеподобные грибки были обнаружены в 224.

Эти микроорганизмы были найдены на земноводных растениях прибрежной формации (Alisma plantago, Menyanthes trifoliata, Lysimachia thyrsiflora), а на макрофитах, составляющих прибрежные заросли, на макрофитах заводей, на растениях, стелющихся по зеркалу воды, и на макрофитах, далеко выходящих в озеро и подвергающихся действию волн в более сильной степени, чем первые. Табл. 2 содержит данные о частоте обнаружения этих микроорганизмов на различных растениях.

Таблица 2

Частота нахождения дрожжей и дрожжеподобных грибков на поверхности водных растений

Название растения	Часть растений	Число взятых проб	Число проб, в которых обнаружены дрожжи
Polygonum amphibium	Стебель и лист	25	22
	Цветок	4	4
Nymphaea candida	Стебель и лист	21	19
	Цветок	9	9
Nuphar luteum	Стебель и лист	19	17
	Цветок	8	6
Hydrocharis morsus ranae	Лист	8	6
Potamogeton lucens	»	14	14
» natans	Лист	6	5
» »	Цветок	3	2
» perfoliatus	Лист	7	7
» praelongus	»	3	3
» pusillus	Стебель и лист	2	1
Scirpus lacustris	Стебель	16	15
Phragmites communis	»	12	10
Equisetum limosum	»	12	8
Sagittaria sagittifolia	Стебель и лист	8	6
	Цветок	2	2
Stratiotes aloides	Лист	5	4
	Цветок	2	2
Ceratophyllum	Лист	3	3
	Цветок	2	2
Myriophyllum	Лист	1	1
Butomus umbellatus	Стебель	3	3
	Цветок	3	3
Elodea canadensis	Стебель	6	4
Typha latifolia	Лист	2	2
Sparganium simplex	»	8	6
Utricularia minor	»	2	2
Spirogyra	—	6	6
Zygnema	—	4	4
Mougeotia	—	2	1
Fontinalis	—	4	4
Lysimachia vulgaris	Лист	1	1
Alisma plantago	»	2	2
Menyanthes trifoliata	»		

Содержание дрожжевых грибков в обрастаниях водных растений велико, хотя у одного и того же растения оно колеблется довольно сильно. В табл. 3 приведены полученные данные по содержанию этих микроорганизмов на поверхности растений (количественные определения проводились не во всех случаях).

Надо отметить, что приводимые числа являются уменьшенными по сравнению с действительным нахождением дрожжей на растениях. Как показали специально проведенные опыты, с растения отмываются в первой воде не все клетки после обычной процедуры встряхивания в течение 10 минут. Если после этого кусочек растения перенести (проведя

Таблица 3

Количество дрожжей и дрожжеподобных грибков на поверхности водных растений

Название растения	Часть растений	Количество клеток на 1 см²
Polygonum amphibium	Лист	21—124
Sagittaria sagittifolia	»	25—282
Nymphaea candida	»	7—34
Nuphar luteum	»	12—46
Potamogeton perfoliatus	»	11—338
Potamogeton praelongus	»	6—48
Potamogeton natans	»	7—31
Hydrocharis morsus ranae	»	0—877
Sparganium simplex	»	7—23
Phragmites communis	Стебель	5—29
Scirpus lacustris	»	2—136
Nymphaea candida	»	1—236
Nuphar luteum	»	8—34
Equisetum limosum	»	67—362

его через стерильную воду для удаления воды, находящейся на нем), во второй цилиндрик со стерильной водой, снова подвергнуть встряхиванию в течение 10 минут и сделать из этой второй воды посевы, то в них развивается еще значительное число колоний. 3-я вода уже содержит лишь единичные колонии (табл. 4).

Таблица 4

Число дрожжевых клеток, отделенных от поверхности макрофитов при последовательном проведении растений через стерильные воды

Стерильная вода	Число клеток на 1 см² поверхности растения		
	стебель камыша	стебель хвоща	лист рдеста
1-я	135	362	338
2-я	47	243	88
3-я	14	4	22

Дрожжи в огромных количествах находятся на цветах водных растений. Чашки, засеянные смывами с цветов, очень часто обнаруживали сплошной рост видов Torulopsis или Rhodotorula. Примером может служить количество клеток дрожжей — 32 тыс., обнаруженное в первом смыве с соцветия Polygonum amphibium, представляющего собой густой колос. Лепестки цветка кувшинки оказались не менее богаты клетками дрожжей, хотя они по данным Рычина [10] не образуют нектара.

Числа, приведенные в табл. 3 и 4 по содержанию дрожжевых клеток на растениях, показывают, как значительна роль этой группы микробов в обрастаниях. Если на поверхности в 1 см² находится несколько сотен клеток, то несомненно, во-первых, что условия существования здесь благоприятны для этих грибков, и, во-вторых, что развитие этих клеток не может быть безразлично ни для субстрата — растения, ни для животных организмов, развивающихся на их обрастаниях. Нет сомнения, что многие животные питаются этими клетками, являющимися

столь ценной пищей. Условия же существования на растениях для дрожжей благоприятны, вероятно, вследствие выделений стеблями, листьями и цветами различных веществ. При отсутствии в настоящее время специальных исследований трудно говорить, каким образом используют в условиях водоема дрожжевые грибки выделяемые растениями органические вещества, но несомненно, что растения не являются только местом прикрепления, поскольку вид растения оказывает большое влияние на качественный состав эпифитной дрожжевой флоры. Проведенные исследования показали, что между водными растениями и эпифитными микроорганизмами на них существует закономерная связь. Влияние субстрата — состава самих макрофитов и выделяемых ими веществ на количественное содержание дрожжей и дрожжеподобных грибков, обитающих на них, на преобладание тех или иных форм — выявляется довольно ясно. Так, например, оказалось, что черные дрожжеподобные грибки почти постоянно связаны с гречихой (Polygonum amphibium). Дуплаков [1] отмечал различие в обрастаниях между листьями Polygonum amphibium и рядом с ними плавающими листьями Potamogeton natans, не касаясь, однако, совершенно микробного состава обрастаний. Оказывается, подмеченное Дуплаковым различие может быть распространено и на эпифитную микробную флору.

В обрастаниях растений, как и в воде и в грунтах, были обнаружены различные виды семейств Torulopsidaceae и Rhodotorulaceae и отдельные виды семейства Endomycetaceae. Число выделенных нами штаммов очень велико. Одних только так называемых черных дрожжей выделено 136 штаммов, видов Torulopsis — 147, видов Rhodotorula — 80.

Дрожжи и дрожжеподобные грибки находятся на растениях с ранней весны. В 1948 г. пробы растений были собраны в середине мая. В это время макрофиты еще только начинали свой рост и их молодые побеги и листья еще не достигли поверхности воды даже в зоне мелководья. И тем не менее на молодых побегах различных макрофитов уже находились дрожжевые клетки. Содержание их в обрастаниях, однако, более высоко летом. Дрожжевые клетки находятся на макрофитах до глубокой осени. Отмирание макрофитов влечет за собой и изменение эпифитной микрофлоры. Весной, одновременно со взятием проб молодой растительности, были взяты пробы со стоящих рядом мертвых стеблей или гниющих корневищ. Оказалось, что на разлагающихся макрофитах дрожжевых клеток или нет совсем, или можно обнаружить единичные клетки — в посевах гниющими растениями развивались в огромных количествах плесневые грибки и бактерии.

Одновременно с дрожжами в обрастаниях растений развивается в больших количествах азотобактер. Это явление было обнаружено нами ранее (Салимовская-Родина [11]) и подтвердилось при исследовании перечисленных озер. Паносян и Туманян [7] обнаружили во время изучения азотобактера почвы, что в определенных почвах этим бактериям сопутствуют дрожжи типа Torula. Проведенная этими авторами экспериментальная работа показала, что связь между азотобактером и дрожжами носит симбиотический характер. Коэффициент размножения Torula при совместном их культивировании с Azotobacter chroococcum в питательных средах, по данным Паносян и Туманян, повышается в 200—280 раз, коэффициент размножения Az. chroococcum — в 115—256 раз.

Обнаруженное нами постоянное нахождение на водных растениях азотобактера и дрожжей показывает положительное взаимодействие обеих групп микробов в условиях естественных водоемов. Высокое содержание в обрастаниях растений азотобактера и дрожжей, являющихся весьма питательными для водных животных, представляет один из факторов, обусловливающих богатство зон зарослей зоопланктоном, находящим себе здесь обильную пищу.

Выводы

1. Дрожжевые и дрожжеподобные грибки, широко распространенные в природе, были обнаружены в подавляющем большинстве исследованных озер.

2. Вода наименее богата этими микроорганизмами, значительно выше содержание их в донных отложениях. Характер грунта и условия водоема определяют количество дрожжей и дрожжеподобных грибков.

3. Велико содержание дрожжей и дрожжеподобных грибков в обрастаниях водных растений, где они развиваются обычно вместе с азотфиксирующими бактериями.

Между водными растениями и эпифитными микроорганизмами на них существует взаимосвязь.

Зоологический институт
Академии Наук СССР
Ленинград

Получено 26.VII.1949

ЛИТЕРАТУРА

1. Дуплаков С. Н. Материалы к изучению перифитона. Тр. Лимнол. ст. в Косине, вып. 16, 1933.
2. Жадин В. И. Современное состояние и задачи гидробиологии в свете учения Вильямса — Мичурина — Лысенко. Зоологич. журнал., 28, вып. 3, 1949.
3. Жадин В. И. Фауна рек и водохранилищ. Тр. Зоологич. ин-та АН СССР, 5, вып. 3—4, 1940.
4. Исаченко Б. Л. Исследования над бактериями Сев. Ледовитого океана. 1914.
5. Кузнецов С. И., Сперанская Т. А. и Коншин В. Д. Состав органического вещества иловых отложений различных озер. Тр. Лимнолог. ст. в Косине, вып. 22, 1939.
6. Омелянский В. Л. Заметки о сапропеле. Изв. Сапр. ком., 2, 1925.
7. Паносян А. К. и Туманян В. Г. Симбиоз между дрожжами и азотобактериями. ДАН Арм. ССР, 7, № 2, 1947.
8. Родина А. Г. Роль бактерий и дрожжевых грибков в питании Cladocera. Тр. Зоологич. ин-та АН СССР, 7, 1948.
9. Родина А. Г. Бактерии как пища пресноводных моллюсков. Микробиология, XVII, вып. 3, 1948.
10. Рычин В. Ю. Флора гигрофитов. Москва, 1948.
11. Салимовская-Родина А. Г. Местонахождение азотобактера в пресных водоемах. ДАН СССР, XXV, № 5, 1939.
12. Салимовская-Родина А. Г. Бактерии и дрожжевые грибки как пища для Cladocera, ДАН СССР, XXIX, № 3, 1940.
13. Штурм Л. Д. Озера Залучья и их иловые отложения. Тр. лабор. генезиса сапропеля, вып. 1, 1939.
14. Экзерцев В. А. Определение мощности микробиол. активного слоя иловых отложений некоторых озер. Микробиология, XVII, вып. 6. 1948.
15. ZoBell C. Marine microbiology. Waltham Mass. USA. 1946.

ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ В КУЛЬТУРАХ УКСУСНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ

В. И. Любимов

После того, как Potter [15] показал, что при заражении культуральной среды бактериями потенциал электрода из благородного металла, погруженного в такую среду, значительно изменяется, были произведены многочисленные исследования окислительно-восстановительного потенциала в микробных средах. Результаты этих исследований подробно разобраны в капитальных сводках Кузнецова [7], Некрасова [9, 10], Вюрмзера [1], Михаэлиса [8] и Канель [4].

В первых же работах было установлено, что электрод, опущенный в бактериальную культуру, приобретает более отрицательный потенциал, нежели электрод, помещенный в стерильную среду. Совершенно очевидно, что возникающий на электроде более отрицательный потенциал обязан влиянию бактериальной культуры.

Кузнецов [6] впервые экспериментально доказал наличие связи между окислительно-восстановительным потенциалом среды и типом обмена у Aspergillus niger. Этот гриб в зависимости от окислительно-восстановительных условий среды образовывал из сахарозы различные продукты: лимонную кислоту, щавелевую кислоту, углекислоту и спирт. Автор пришел к заключению, что лимонная кислота образуется из глюкозы только тогда, когда rH_2 среды ниже 15,5.

Это направление о связи окислительно-восстановительного потенциала в бактериальных культурах с типом обмена в дальнейшем особенно плодотворно разрабатывалось советскими исследователями [3, 5, 11].

Биохимические превращения веществ, осуществляемые уксуснокислыми бактериями, изучены довольно хорошо и относятся к так называемым «окислительным брожениям». В ходе «окислительного брожения» уксуснокислые бактерии окисляют первичные спиртовые группы спиртов в карбоксильные, образуя соответствующие органические кислоты; вторичная спиртовая группа глицерина окисляется в кетогруппу с образованием диоксиацетона; альдегидная группа глюкозы окисляется в карбоксил с образованием глюконовой кислоты. На фоне этих сравнительно простых биохимических превращений представлялось чрезвычайно интересным изучить окислительно-восстановительный режим уксуснокислых бактерий.

В литературе имеются работы двух авторов, изучавших окислительно-восстановительный потенциал уксуснокислых бактерий (Cozik [12] и Janke [13]). Оба автора проводили свои исследования с отмытыми суспензиями заранее выращенных клеток («покоящиеся культуры»).

Попытки Cozik установить какую-либо связь между активностью дыхания у различных видов уксуснокислых бактерий и устанавливающимся при этом окислительно-восстановительным потенциалом остались безуспешными. Козик нашла, что в более плотных суспензиях устанавливается более низкий окислительно-восстановительный потенциал, но не дала объяснения этому факту.

Янке, анализируя опыты Козик, предположил, что снижение окислительно-восстановительного потенциала в более плотных суспензиях происходило вследствие накопления ацетальдегида. В то же время при внесении в среду ацетальдегида извне Янке не наблюдал снижения потенциала. Следовательно, сам по себе ацетальдегид не влиял на устанавливающийся на электроде потенциал. Таким образом, и Янке не дал сколько-нибудь удовлетворительного объяснения снижению окислительно-восстановительного потенциала в суспензиях уксуснокислых бактерий.

Приступая к опытам по изучению окислительно-восстановительного режима уксуснокислых бактерий, я считал необходимым прежде всего сравнительно изучить ход изменения окислительно-восстановительного потенциала у различных видов уксуснокислых бактерий. Разные виды уксуснокислых бактерий характеризуются различной окислительной способностью. Один вид окисляет спирт медленно, другой — быстрее. Один вид, окислив спирт в уксусную кислоту, производит ее дальнейшее

окисление («переокисление»), другие виды в меньшей мере производят «переокисление» уксусной кислоты.

Не могут ли быть эти физиологические различия видов охарактеризованы со стороны окислительно-восстановительных условий в их культурах? С другой стороны, различные виды уксуснокислых бактерий характеризуются неодинаковым строением образующейся на поверхности среды пленки. Такие виды, как Bact. xylinum и Bact. xylinoides, образуют на поверхности жидкой среды чрезвычайно мощную пленку, толстую, плотную и трудно поддающуюся разрыву. Напротив Bact. vini acetati, Bact. curvum и др. образуют слабую пленку, разрушающуюся при легком встряхивании колбы. Казалось, что уже сами эти морфологические различия будут иметь влияние на уровень устанавливающегося в среде окислительно-восстановительного потенциала.

Для опытов по изучению хода изменения окислительно-восстановительного потенциала в культурах уксуснокислых бактерий были взяты следующие виды:

1) Bact. xylinoides (культура из музея кафедры микробиологии Московского государственного университета);

2) Bact. vini acetati (из Всесоюзной научно-исследовательской уксусной лаборатории);

3) Bact. curvum (из Центральной бродильной лаборатории).

Методика

Культуры уксуснокислых бактерий выращивались в конических колбах емкостью 250 мл, содержавших 100 мл среды. Средой служила дрожжевая вода (0,5%), в которую после стерилизации добавлялось 4% этилового спирта. Сразу после посева колбы снабжались тремя электродами для определения окислительно-восстановительного потенциала, агаровым сифоном и специальной пипеткой для отбора проб среды в ходе опыта (рис. 1). Выращивались бактерии при 28°.

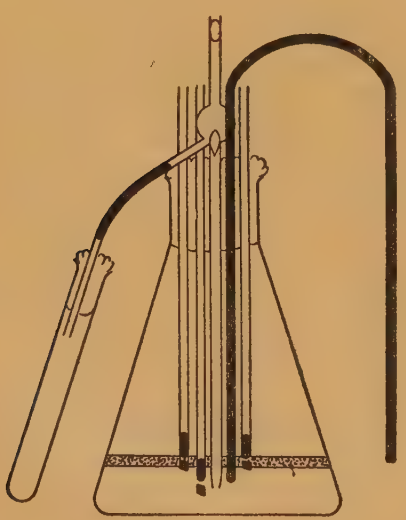


Рис. 1.

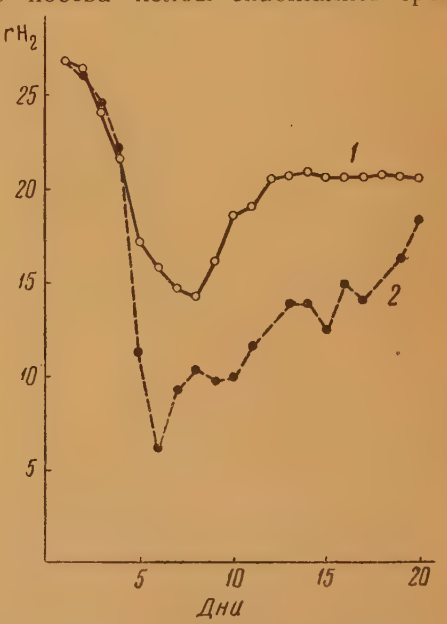


Рис. 2. Изменение окислительно-восстановительного потенциала (rH_2) в культурах Bact. xylinoides (средние данные из 5 опытов). *1* — верхний электрод; *2* — нижний электрод

В качестве электродов употреблялись платиновые платинированные пластинки размером 0,5 × 0,5 см.

В целях достижения однородности показаний электроды после платинирования катодно поляризовались в течение 1 минуты в растворе 1 *N* H_2SO_4 при плотности тока в 0,02 А/см².

Из трех электродов, которыми снабжалась каждая колба, два помещались на таком уровне, что при росте пленки они оказывались в ее толще, а третий электрод на 3—4 мм под пленкой. Необходимо отметить хорошую воспроизводимость показаний электродов.

Ввиду того, что в ходе роста культуры происходит сильное подкисление среды и поэтому Eh не может быть постоянной характеристикой окислительно-восстановительных условий при изменяющемся pH, величины потенциала даны в виде индекса аэробности (rH_2), который учитывает изменение реакции среды.

Средние данные измерений хода окислительно-восстановительного потенциала в культурах Bact. xylinoides, Bact. vini acetati и Bact. curvum представлены графически на рис. 2, 3 и 4.

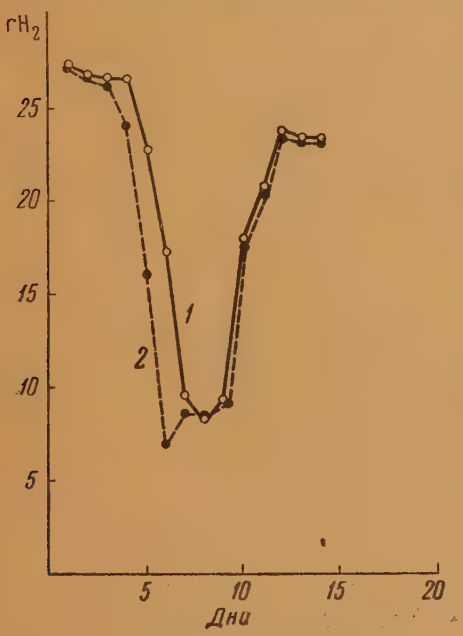


Рис. 3. Изменение окислительно-восстановительного потенциала (rH_2) в культурах Bact. vini acetati (средние данные из 4 опытов). *1* — верхний электрод; *2* — нижний электрод

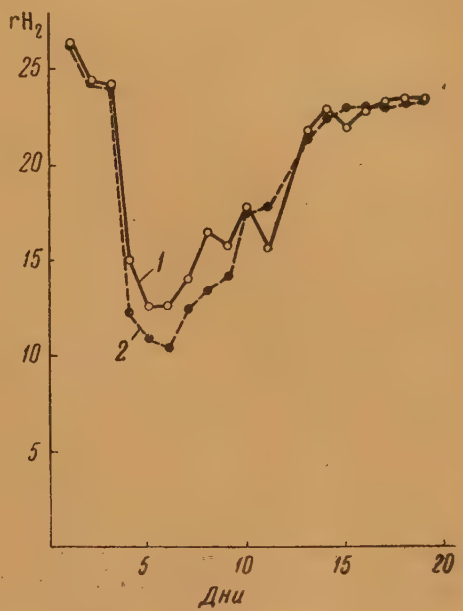


Рис. 4. Изменение окислительно-восстановительного потенциала (rH_2) в культурах Bact. curvum (среднее из 4 опытов). *1* — верхний электрод; *2* — нижний электрод

Какие выводы можно сделать из результатов измерений окислительно-восстановительного потенциала в наших культурах уксуснокислых бактерий?

Для всех трех культур ход изменения потенциала в общих чертах имет одинаковый характер. Именно, через несколько дней после посева происходит падение потенциала. Наиболее низких значений потенциал достигает после образования бактериальной пленки на поверхности среды. Восстановленные условия удерживаются в культуре в течение нескольких дней, затем потенциал становится все более положительным и, наконец, стабилизируется на некотором уровне ($rH_2 = 20—21$ для Bact. xylinoides, $rH_2 = 23—24$ для Bact. vini acetati и $rH_2 = 24$ для Bact. curvum).

Интересным является тот факт, что в культурах уксуснокислых бактерий, являющихся облигатными аэробами и типичными «окислителями», в обычных условиях культивирования при доступе кислорода воздуха окислительно-восстановительный потенциал может достигать весьма низких значений ($rH_2 = 7—8$).

Во всех случаях электроды, помещенные в толщу бактериальной пленки, дают более высокие показания, чем электроды, находящиеся под пленкой. В первом случае подъем потенциала наступает раньше, чем во втором, да и сам потенциал у верхних электродов достигает менее отрицательных значений. Этот разрыв между показаниями верхних и нижних электродов больше всего в культурах Bact. xylinoides. В культурах B. vini acetati и B. curvum показания верхних и нижних электродов идут параллельно, не обнаруживая больших различий. Этот разрыв в показаниях верхних и нижних электродов в культурах Bact. xylinoides, повидимому, следует объяснить особенностями строения пленки этого вида, затрудняющей доступ кислорода воздуха в глубь среды.

Кривые изменения окислительно-восстановительного потенциала для трех культур уксуснокислых бактерий имеют несколько различную конфигурацию; в культуре Bact. vini acetati потенциал достигал более отрицательных значений, нежели в культурах двух других видов.

Сравнивая наши результаты с наблюдениями об окислительно-восстановительном режиме уксуснокислых бактерий, имеющимися в литературе, следует отметить, что нашими опытами впервые отмечаются столь восстановительные условия. Ни Cozik [12], ни Janke [13] не отмечали подобного факта. Правда, существенными являются различия между опытами этих авторов и нашими. Они работали с суспензиями так называемых «покоящихся культур», мы — с развивающимися культурами.

Можно предположить, что при интенсивном размножении уксусных бактерий мы имеем иной темп и тип биохимических превращений питательного субстрата, нежели в суспензиях «покоящихся культур».

Иерусалимский [2] особенно наглядно показал, что существует связь между размножением уксуснокислых бактерий и кислотообразованием. Автор детально исследовал кислотообразование в культурах B. vini acetati в связи с размножением клеток. При пересчете окислительной активности культуры на одну клетку оказалось, что наибольшей активностью обладают бактерии в период энергичного размножения.

В работе Söhngen [16] имеются указания, что в культурах уксуснокислых бактерий наряду с окислительными процессами происходят и процессы восстановительные. Он отмечает, что сера, сульфиты и тиосульфаты в культурах уксуснокислых бактерий восстанавливались в сероводород. Особенно восстанавливались соединения селена и теллура.

В культурах уксуснокислых бактерий резкое падение окислительно-восстановительного потенциала совпадает по времени с периодом энергичного размножения культуры.

Казалось, что падение потенциала связано не с чисто морфологической картиной развития бактериальной культуры, а с химическими превращениями, которые производит развивающаяся культура. Это явилось исходным положением для постановки описываемых ниже опытов.

Методика

Все дальнейшие опыты были проведены с Bact. xylinoides. В качестве культуральных сосудов употреблялись специальные конические колбы, позволяющие при большой поверхности иметь слой среды в 7—8 мм, т. е. среда почти полностью была занята толстой пленкой культуры.

Средой служила дрожжевая вода (0,5%) с добавлением 0,25% уксусной кислоты, 5% этилового спирта, предварительно освобожденного от альдегидов.

В исходной среде перед посевом и в ходе опыта определялись этиловый спирт, ацетальдегид и уксусная кислота (по титруемой кислотности). Определения этилового спирта и ацетальдегида производились методом, описанным Janke и Kropacsy [14].

Результаты этих опытов приведены в табл. 1 и графически на рис. 5.

Уже на другой день после засева среды потенциал снижался, достигая в наших опытах наиболее отрицательных значений (rH_2 = 13,7—14,3)

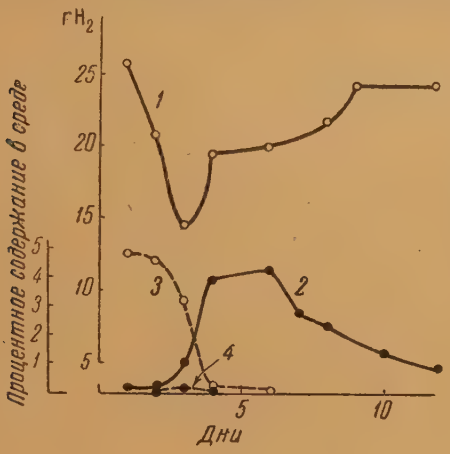


Рис. 5. Изменение окислительно-восстановительного потенциала (rH_2) в культуре Bact. xylinoides в связи с биохимическими превращениями субстрата. *1*—rH_2; *2*—кислотность; *3* — содержание спирта; *4* — ацетальдегид

Таблица 1

Ход изменения окислительно-восстановительного потенциала в культуре Bact xylinoides в связи с биохимическими превращениями субстрата

Дата	Eh V	pH	rH_2	Уксусная кислота в %	Ацетальдегид в %	Этиловый спирт в %
			Опыт I			
24.II	0,416	5,1	24,5	0,21	—	4,781
25.II	0,334	5,0	21,5	0,21	—	4,780
26.II	0,286	3,8	17,4	0,78	0,01	4,000
27.II	0,212	3,2	13,7	3,84	0,11	0,184
28.II	0,322	3,4	17,7	3,96	0,07	0,062
1.III	0,368	3,5	19,6	3,06	—	—
3.III	0,382	3,5	20,1	2,28	—	—
4.III	0,408	3,62	21,24	1,84	—	—
5.III	0,410	3,7	21,5	1,50	—	—
6.III	0,406	3,7	21,4	1,38	—	—
7.III	0,414	3,72	21,6	1,2	—	—
8.III	0,410	3,8	21,7	0,96	—	—
10.III	0,410	3,8	21,7	0,6		
11.III	0,410	3,8	21,7	0,45		
			Опыт II			
12.III	0,460	5,0	25,8	0,21	—	4,811
13.III	0,314	5,0	20,8	0,21	0,02	4,616
14.III	0,225	3,3	14,3	0,46	0,1	3,22
15.III	0,379	3,2	19,4	3,9	0,05	0,243
17.III	0,348	3,95	19,9	4,2	—	0,078
18.III				2,7	—	—
19.III	0,400	3,95	21,7	2,34	—	—
21.III	0,468	4,0	24,1	1,32	—	—
25.III	0,465	4,0	24,0	0,78	—	—

на 3—4-й день т. е. к моменту наиболее сильного развития пленки на поверхности среды. На 3-й день наблюдалось увеличение кислотности, которая достигала своего максимума на 3—4—5-й дни. В последующие дни кислотность снижалась вследствие начавшегося «переокисления». В то время, когда отмечалось снижение кислотности, ни спирта, ни ацетальдегида в среде обнаружить не удавалось.

Сопоставление хода изменения окислительно-восстановительного потенциала среды с изменением количеств спирта, ацетальдегида и уксусной кислоты показывает, что потенциал среды является отражением именно биохимического процесса.

После потребления спирта и ацетальдегида потенциал среды становится все более положительным. В то же время в культуре идет процесс «переокисления» уксусной кислоты. Однако этот процесс не приводит к снижению потенциала, а протекает при более положительном его значении.

Таким образом, падение потенциала в культурах Bact. xylinoides, очевидно, отражает энергичное дегидрирование этилового спирта. По мере того, как дегидрирование этилового спирта уменьшается или совершенно прекращается, потенциал электрода становится более положительным.

Было предположено, что новое добавление этилового спирта в среду приведет к возникновению вторичного минимума потенциала. Следующие опыты целиком подтвердили это предположение (рис. 6).

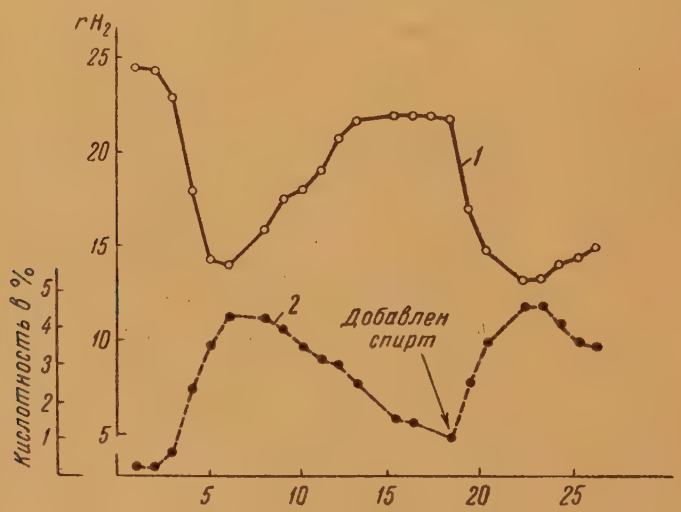


Рис. 6. *1* — rH_2; *2* — кислотность

В культуру Bact. xylinoides после того, как весь спирт был окислен и в значительной мере прошло «переокисление», а потенциал стабилизировался на уровне $rH_2 = 22—23$, было добавлено 3% этилового спирта.

На следующий день после добавления спирта можно было отметить снижение окислительно-восстановительного потенциала.

Нельзя объяснить падение потенциала в культуре Bact. xylinoides только «уводом» кислорода из субстрата в результате жизнедеятельности бактерий. Когда бактерии «переокисляют» уксусную кислоту, они также потребляют кислород, однако это не сказывается на падении окислительно-восстановительного потенциала.

Это дает возможность предположить, что механизм «переокисления» отличается от механизма дегидрирования спирта.

Приношу глубокую благодарность проф. В. Н. Шапошникову за постоянный интерес и внимание к моей работе.

Выводы

1. Прослежен ход изменения окислительно-восстановительного потенциала в культурах уксуснокислых бактерий — Bact. xylinoides, Bact. vini acetati и Bact. curvum.

При культивировании уксуснокислых бактерий при свободном доступе кислорода воздуха в среде создаются восстановительные условия, которые не могут быть объяснены потреблением растворенного в среде кислорода.

2. Опыты с Bact. xylinoides показали, что снижение окислительно-восстановительного потенциала наиболее велико ($rH_2 = 7—8$) в период энергичного дегидрирования этилового спирта с образованием ацетальдегида и уксусной кислоты.

3. «Переокисление» уксусной кислоты происходит при более высоком окислительно-восстановительном потенциале ($rH_2 = 20—22$).

Московский государственный университет
им. М. В. Ломоносова
Институт ботаники

Получено 28.V.1949

ЛИТЕРАТУРА

1. Вюрмзер. Биологическое окисление и восстановление. Москва, 1935.
2. Иерусалимский Н. Д. Связь между кислотообразованием и развитием уксуснокислых бактерий, Микробиология, VIII, 160, 1939.
3. Канель Э. С. Сравнительное исследование по механизму дыхательного процесса у двух близких рас Rhizopus nigricans в связи с дифференцировкой таллома и изменениями внешних условий. Микробиология, IV, 636, 1935.
4. Канель Э. С. Окислительно-восстановительный потенциал бактериальных культур. Микробиология, X, 595, 1941.
5. Красина Н. Н. Физиология бактерий, разлагающих муравьиную кислоту с образованием газа, Микробиология, V, 669, 1936.
6. Кузнецов С. И. - Сдвиги окислительно-восстановительных процессов у Asp. niger в связи с изменениями потенциала среды. Микробиология, I, 30, 1932.
7. Кузнецов С. И. Окислительно-восстановительный потенциал в биологии. Успехи биологической химии, X, 119, 1933.
8. Михаэлис Л. Окислительно-восстановительные потенциалы. Москва, 1936.
9. Некрасов Н. И. Окислительно-восстановительный потенциал в биохимических процессах. Успехи биологической химии, X, 72, 1933.
10. Некрасов Н. И. О неравновесном окислительно-восстановительном потенциале. Микробиология, VI, 849, 1937.
11. Работнова И. Л. Окислительно-восстановительный потенциал среды в связи с усвоением молекулярного азота. Микробиология, X, 526, 1941.
12. Cozik M. Etude biochimique de Bact. xylinum. Revue générale de Botanique. 46, 1, 75, 157, 209, 268, 337, 1934; 48, 141, 1936.
13. Janke A. Über den Sauerstoffverbrauch und das Redoxpotential der Essigsäurebakterien. Arch. Mikrob., 8, 348, 1937.
14. Janke A. und Kropacsy S. Beiträge zur Kenntnis des Mechanismus der Essigsäuregärung. Bioch. Z., 278, 30, 38, 1935.
15. Potter, цит. по Канель [4].
16. Söhngen N. Über reduzierende Eigenschaften der Essigbakterien. Ctbl. Bakt. II, 49, 318, 1919.

АМИЛОЛИТИЧЕСКИЕ ФЕРМЕНТЫ У АСПЕРГИЛЛОВ

Д. Н. Климовский и *В. И. Родзевич*

Интерес, возбуждаемый в настоящее время к микроорганизмам, продуцирующим амилазу, объясняется тем, что с их помощью, используя для выращивания микроорганизмов малоценное сырье, можно получать этот фермент более экономично, чем из зерновых культур.

За прежние годы опубликовано немного работ, в которых сообщалось бы о массовом исследовании микроорганизмов в отношении их способности продуцировать амилазу. Главным образом исследовались «китайские дрожжи», из которых были выделены широко известные Mucor Delamar и Mucor Roux, использованные в способе производства спирта «Амило», и Aspergillus oryzae, препараты которого известны под названием така-диастаза. Подробные исследования по физиологии Aspergillus oryzae и по амилолитическим свойствам получаемых с помощью его препаратов были проведены Фениксовой и Сегаль [3]. В 1937 г. Вяткиным и Станьковым [1] впервые в производстве спирта был использован Aspergillus niger. Этим почти полностью исчерпывается список плесневых грибов, применяемых в качестве продуцентов амилазы.

За последние 10 лет появилось довольно много работ, в которых сообщается о массовых обследованиях бактерий и грибов в отношении их амилолитических свойств, но обычно исследователи ограничивались констатацией способности продуцирования амилазы по декстринирующей способности и по степени разложения крахмала при сбраживании, имея в виду интересы спиртовой промышленности. В то же время представляет интерес более подробно исследовать характер продуцируемой амилазы, чтобы составить понятие о возможном использовании того или другого представителя в промышленности и расширить список полезных микроорганизмов. В настоящей работе приведены характеристики амилолитических свойств 20 штаммов аспергиллов.

Культуры плесневых грибов были получены из различных учреждений, обозначенных в сводной таблице сокращенными обозначениями. Большая часть штаммов была получена из лаборатории низших растений Московского государственного университета [1], обозначенной в таблице ЛНР, несколько штаммов из Микробиологической лаборатории Московского государственного университета, обозначенной МЛ, часть штаммов — из лаборатории чистых культур Всесоюзного научно-исследовательского института спиртовой промышленности, обозначенной ЛЧК.

Для получения амилолитических препаратов грибы выращивались на стерилизованных пшеничных отрубях при температуре 30°. Рост грибов проводился до обильного спороношения, что требовало 3—5 суток. Готовые культуры вынимались из колб, высушивались в тонком слое при комнатной температуре, растирались в ступке в порошок и в таком виде употреблялись для анализа. Для определения амилолитической активности делались водные вытяжки с 10-кратным количеством воды при 30° в течение 30 мин. В фильтрате вытяжек определялись: амилоли-

[1] Пользуемся случаем выразить благодарность проф. Л. И. Курсанову и проф. В. Н. Шапошникову за предоставленные чистые культуры микроорганизмов.

тическая активность (АА), осахаривающая активность (ОА), декстринолитическая активность (ДА).

Цифры, помещенные в таблице, обозначают величину соответствующей активности в следующих единицах.

Амилолитическая активность (АА) — количество граммов крахмала, превращенного в ахродекстрины одним граммом препарата за один час при 30°. Конец данной реакции определяется исчезновением окраски от иода, что характеризует наличие в препарате α-амилазы. Единица измерения г/г-час.

Осахаривающая активность (ОА) — количество граммов крахмала, превращенного в мальтозу одним граммом препарата за один час при 30°. Количество полученной мальтозы характеризует главным образом наличие в препарате β-амилазы. Единица измерения г/г-час.

Декстринолитическая активность (ДА) — степень осахаривания фосфодекстринов при соотношении: препарат: декстрины = 1 : 1 за 2 часа при 55° и за 24 при 30°. Характеризует наличие в препарате декстринолитических ферментов, обусловливающих наиболее полное расщепление крахмальной молекулы [2]. Процент осахаривания за 2 часа и процент за 24 часа.

Так как при определении осахаривающей и декстринолитической активности результаты могут быть искажены за счет присутствия мальтазы, то в некоторых случаях делались контрольные сбраживания навески муки, осахаренной данным препаратом. Приведенные в таблице цифры выражают проценты крахмала муки, превращенного в сбраживаемые сахара.

Результаты анализов даны в сводной табл. 1.

Таблица 1

Характеристика амилолитических ферментов плесневых грибов, выращенных на пшеничных отрубях

Название	Происхождение	АА г/г-час	ОА г/г-час	ДА		Осахарено крахмала при брожении, %
				2 часа, %	24 часа, %	
Aspergillus oryzae	ЛЧК	12,0	5,41	35	59	—
» »	МЛ	8,6	7,52	28	49	85,8
» auricoma	ЛНР	4,3	2,0	26	55	81,3
» minimus	»	4,0	3,0	29	49	90,2
» species	ЛЧК	3,0	2,61	50	82	88,7
» ochraceus	ЛНР	2,4	2,4	41	67	94,6
» flavus	»	1,2	0,6	34	60	76,9
» flavipes	»	1,1	1,05	31	49	76,9
» fumigatus	»	1,0	1,04	41	68	93,2
» niger	»	0,65	1,3	50	90	91,7
» niger штамм S	ЛЧК	0,56	1,14	48	75	94,6
» niger » K	»	0,52	1,02	42	77	—
» terreus	ЛНР	0,5	1,05	31	50	66,6
» usfus	»	0,5	1,09	21	26	66,6
» candidus	»	0.57	0,68	27	41	69,5
» melleus	»	0,5	0,73	41	79	47,3
» repens	»	0,24	0,5	10	54	51,7
» Sidowii	»	0,21	0,52	29	48	41,4
» nidulans	»	0,19	0,51	26	43	48,8
» Tieraboschii	»	0,27	0,51	32	59	54,7
» versicolor	»	0,2	1,07	29	48	23,7
» unguis	»	0,16	0,43	18	49	39,9
» Wentii	ЛЧК	0,14	0,96	27	52	84,3
Penicillium arenarium	МЛ	0,66	3,44	56	77	—
» notatum	ЛЧК	0,66	1,11	54	71	72,5
» chrysogenum	»	0,66	1,35	61	86	82,8
» glaucum	МЛ	0,44	0,82	44	66	—

В целях удобства обозрения препараты расположены в таблице по убывающей величине АА. В конце таблицы приведено для сравнения 4 препарата, полученных выращиванием пенициллов.

Полученные результаты показывают, что аспергиллы представляют большое разнообразие как по абсолютной величине амилолитической активности, так и по взаимоотношению отдельных показателей. Можно наметить два основных типа препаратов, резко отличных по характеру амилолитических ферментов: тип Aspergillus oryzae и тип Aspergillus niger. Первый тип характеризуется высокой амилолитической и осахаривающей активностями (причем ОА имеет меньшую величину, чем АА) и сравнительно пониженной способностью осахаривать фосфодекстрины. Второй тип характеризуется низкими величинами АА и ОА (причем величина ОА выше, чем АА) и сравнительно высокой способностью осахаривать фосфодекстрины.

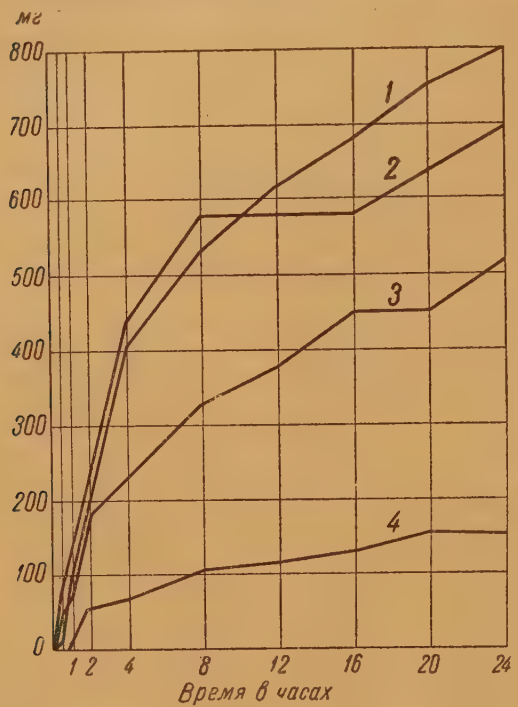


Рис. 1. Динамика осахаривания конечных декстринов. *1* — Aspergillus niger; *2*— просо; *3* — Aspergillus oryzae; *4* — ячмень

Все остальные аспергиллы либо подходят под эти основные типы либо же имеют переходный характер.

Пользуясь приведенной характеристикой, можно было бы расположить исследованные грибы в следующие группы.

К типу Aspergillus oryzae можно было бы отнести следующие: Aspergillus auricoma, Aspergillus minimus, Aspergillus flavus и отчасти Aspergillus flavipes. Отношение АА : ОА у этих препаратов больше 1, декстринолитическая активность колеблется в пределах 26—35%, а осахаривание крахмала при сбраживании от 77 до 90%.

К типу Aspergillus niger полностью подходит только Aspergillus fumigatus; Aspergillus melleus подходит под этот тип по отношению АА : ОА, и по величине ДА, но по степени сбраживания крахмала значительно ниже, что можно, впрочем, объяснить действием на дрожжи каких либо продуктов обмена. Пожалуй, к этому же типу можно отнести Aspergillus Wentii, который, несмотря на очень низкую амилолитическую активность по всем показателям, дал довольно значительную степень выбраживания крахмала около 84%. Данное обстоятельство можно объяснить еще тем, что музейный штамм этого гриба плохо развивался на отрубях и поэтому его свойства в полной мере не выявились.

Aspergillus ochraceus нужно отнести к промежуточному типу. По амилолитической и осахаривающей активности этот гриб приближается к Aspergillus oryzae, по декстринолитической к Aspergillus niger, а по степени выбраживания крахмала является одним из лучших образцов. Этот гриб заслуживает внимательного изучения.

К промежуточному же типу нужно отнести неидентифицированный

аспергилл (Aspergillus sp.), выделенный с просяного солода. Этот гриб по своим качествам напоминает Aspergillus ochraceus, уступая ему по степени сбраживания крахмала. К положительным свойствам нужно отнести то, что он самопроизвольно вырастает на просяном или ржаном солоде, усиливая их декстринолитическую способность. Так например, количество ржаного солода после появления гриба может быть снижено с 8 до 4% от веса разваривaемого зерна, что дает вполне реальный экономический эффект.

Остальные исследованные аспергиллы не представляют интереса, так как их амилаза, как видно по всем показателям, очень мало активна.

Пенициллы по характеру амилазы относятся к типу Aspergillus niger. Высокая декстринолитическая способность должна была бы быть связана и с высокой степенью сбраживания крахмала, что, однако, не наблюдается. Повидимому, в данных пенициллах имеется большое количество мальтазы, которая, образуя глюкозу, искажает результаты определения.

Результаты данного исследования показывают, что аспергиллы производят гидролиз крахмала двумя путями: либо путем воздействия амилазой, либо же другим путем, по всей вероятности, подобным фосфоролизу. Последнее предположение подтверждается динамикой гидролиза фосфодекстринов, выделенных из картофельного крахмала [2].

Гидролиз проводился при 30° с 1% раствором фосфодекстринов. В качестве амилолитических агентов были взяты водные вытяжки из препаратов, полученных выращиванием грибов на пшеничных отрубях. Отношение препарата к декстринам равно 1 : 1. Для сравнения приводятся кривые для ячменного и просяного солодов. Препараты имели амилолитическую характеристику, указанную в табл. 2.

Таблица 2

Название	АА г/г-час	ОА г/г-час	ДА	
			за 2 часа %	за 24 часа %
Aspergillus oryzae	9,2	7,3	32	53
» niger	0,53	1,0	47	73
Ячменный солод	6,5	7,2	8	18
Просяной »	3,5	2,5	41	71

Результаты опыта представлены на рисунке. Различие в гидролизе фосфодекстринов препаратами Aspergillus niger и Aspegillus oryzae заметно очень ясно. Накопление редуцирующих групп под действием Aspergillus niger происходит по плавно нарастающей кривой и достигает примерно 94% осахаривания декстринов. Накопление редуцирующих групп под действием Aspergillus oryzae происходит по ломаной кривой, в первый момент быстро, затем гидролиз замедляется, между 16-м и 20-м часом совсем останавливается и затем вновь начинается накопление редуцирующих групп.

Такая же остановка, только более длительная, имеет место при осахаривании просяным солодом. Это несомненно указывает на какую-то перестройку ферментативной системы, которая не имеет места в случае осахаривания Aspergillus niger. Особенно ярко наличие у Aspergillus niger неамилазной системы, гидролизующей крахмал, можно видеть, сравнивая его с ячменным солодом, содержащим значительно большее

количество амилазы, но почти совершенно не осахаривающего фосфодекстрина.

Таким образом, более правильное представление о способности микроорганизма к гидролизу крахмала создается в том случае, когда определяются и амилолитическая и декстринолитическая активности, отвечающие двум возможным путям гидролиза крахмала.

Выводы

1. Исследование амилолитических ферментов у 20 штаммов аспергиллов показало, что грибная амилаза даже в пределах одного рода значительно различается как по соотношению отдельных компонентов, так и по абсолютной амилолитической активности.

2. Гидролиз крахмала осуществляется аспергиллами посредством двух ферментативных систем: амилазной (типичный представитель Aspergillus oryzae) и, повидимому, фосфорилазной (типичный представитель Aspergillus niger).

3. Заслуживает более глубокого исследования, кроме уже получивших распространение грибов, штаммы Aspergillus ochraceus и Aspergillus sp.

Всесоюзный научно-исследовательский институт спиртовой промышленности
Москва

Получено 24.V.1949

ЛИТЕРАТУРА

1. Вяткин В. В. Новый способ переработки цикория. Спиртоводочная промышленность, № 9, 13, 1940.
2. Климовский Д. Н. и Родзевич В. И. Ферментативный гидролиз крахмала амилазами различного происхождения. Биохимия, вып. 1, 1949.
3. Фениксова Р. В. и Сегаль Р. Б. Применение Aspergillus oryzae для осахаривания крахмалистого сырья в спиртовом производстве. Микробиология, т. X, вып. 7—8, стр. 873, 1941.

ВЛИЯНИЕ СВОБОДНОЙ ЛИМОННОЙ КИСЛОТЫ НА ПРОЦЕСС КИСЛОТООБРАЗОВАНИЯ У ГРИБА ASPERGILLUS NIGER

Г. И. Журавский

Некоторые штаммы гриба Aspergillus niger, обладающие высокой кислотообразующей способностью, могут накапливать в сахарсодержащей среде значительные количества лимонной кислоты.

Концентрация образовавшейся в бродильном растворе лимонной кислоты может достичь, в зависимости от условий культивирования, 15% и выше. Это, очевидно, связано с известной устойчивостью штаммов Aspergillus niger к продукту своей жизнедеятельности — лимонной кислоте.

Многие исследователи указывают на вредное влияние высоких концентраций лимонной кислоты в субстрате на дальнейшее течение процесса кислотообразования в клетках мицелия.

В силу этого некоторые авторы с целью усиления продуцирования лимонной кислоты прибегают к частичной или полной нейтрализации ее мелом, содой или едким натром.

Так, Buchner и Wüstenfeld [11] считают, что нейтрализация углекислым кальцием является безусловно необходимой для накопления больших количеств лимонной кислоты. Более поздние работы Кирсановой [6] и др. показывают положительную роль частичной нейтрализации бродильных растворов, которая обеспечивает увеличение выходов лимонной кислоты на 15—50% и выше по сравнению с контролем. Они находят, что сода и едкий натр являются лучшими нейтрализаторами.

Вместе с тем многие авторы воздерживаются от положительной оценки роли нейтрализации кислоты, накопившейся в бродильном растворе. По Amelung [9], образование лимонной кислоты грибом должно отличаться от образования щавелевой и молочной кислоты бактериями тем, что у последних даже небольшие количества образовавшихся кислот задерживают дальнейшую жизнедеятельность, и для того, чтобы усилить процесс, необходимо добавить мел, нейтрализующий среду. Прибавление же $CaCO_3$ в питающую Aspergillus niger среду не оказывает положительного влияния на количество образовавшейся лимонной кислоты, и мел имеет значение лишь только в случае недостатка сахара, так как при этом осажденная в виде цитрата кальция кислота предохраняется от использования ее грибом. Bernhauer [1, 10] считает, что активные штаммы обычно отличаются кислотоустойчивостью и не дают разницы в опытах, проведенных в присутствии или отсутствие $CaCO_3$. Этот автор указывает, что только плохие кислотообразователи, более чувствительные к накапливающейся кислоте, обычно хуже переносят кислую реакцию и без мела дают более низкие выходы лимонной кислоты.

Буткевич отмечает, что образование лимонной кислоты может происходить в значительных количествах и в отсутствие мела [2]. Образование лимонной кислоты зависит в известной степени от кислотности раствора; при более низкой — преобладает накопление глюконовой кислоты, что имеет место в присутствии $CaCO_3$; образование же лимонной кислоты в последнем случае Буткевич объясняет накоплением свободных кислот в верхних слоях сбраживаемого раствора, непосредственно соприкасающихся с нижней поверхностью пленки гриба [3].

По Frey [12], получения хороших выходов лимонной кислоты можно добиться путем частичной нейтрализации карбонатом кальция до pH-3,0.

В настоящей работе мы поставили себе цель получить более определенное представление о влиянии свободной лимонной кислоты, накапливаемой в субстрате в различных концентрациях, на дальнейший биологический процесс ее синтеза мицелием Aspergillus niger.

Изучение этого вопроса должно вскрыть одну из важных деталей биохимического процесса и дать возможность для сознательного введения в промышленности более совершенной технологии с максимальной эффективностью использования кислотообразующей активности гриба. В решении поставленной задачи имеются известные трудности для исследования.

Если оставить различные моменты вырождения штамма, на которые часто в затруднительных случаях ссылаются некоторые авторы, то имеется ряд других причин, которые могут существенно влиять на интенсивность процесса кислотообразования в сторону ее снижения.

1. Возрастные изменения в стареющем мицелии (падение синтетической способности в живых клетках, отложение запасных балластных веществ и частичное отмирание).

2. Прогрессирующее обеднение бродильных растворов сахаром.

3. Наличие питательных солей в сбраживаемых растворах и их вредное последействие, связанное, очевидно, с проявлением несвоевременного роста мицелия.

4. Появление в субстрате продуктов жизнедеятельности гриба, в том числе и лимонной кислоты, угнетающе действующих на процесс кислотообразования.

Как уже было сказано, для накопления высокой концентрации лимонной кислоты в сбраживаемом растворе некоторые авторы рекомендуют нейтрализацию ее мелом или щелочью. Однако более широко, чем нейтрализация, применяется метод частых смен, при помощи которого под грибом производится периодическое снижение концентрации лимонной кислоты. Применение такой методики дает весьма положительный эффект. При смене полусброженного раствора на новый сахарный раствор в значительной степени повышается кислотообразующая активность грибной пленки.

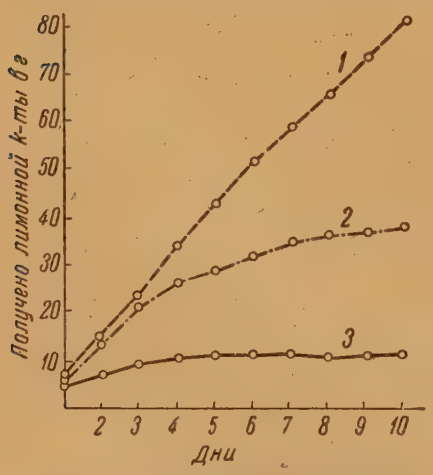


Рис. 1. *1* — многосменная культура; *2*—односменная; *3* — бессменная

Наглядно это можно видеть на специальном опыте, поставленном сотрудником автора Терентьевой с бессменной, односменной и многосменной культурами гриба.

Гриб выращивался двое суток на общепринятой среде Ролена, содержащей 5% сахара. После роста для односменной культуры питательный раствор заменялся 25% раствором сахара, содержащим азот. При многосменной культуре концентрация сахара была 15%, растворы сменялись через каждые двое суток. При бессменной культуре питательный раствор содержал 25% сахара и не менялся в течение всего опыта. Опыты велись при 32°.

На рис. 1 представлены кривые нарастания кислотообразования. По ним видно, что при односменной культуре мицелий гриба за один и тот же промежуток времени (10 суток брожения) синтезирует лимонной

кислоты в 3 с лишним раза (333,0%) больше, чем при бессменной. Многосменная же культура дает кислоты в 7 раз (707,4%) больше. По сравнению с односменной производительность ее выше в два раза (212,4%).

В табл. 1 представлена активность грибных пленок при различных способах культивирования за 6-е сутки процесса, когда грибная пленка, независимо от способа культивирования, обладает достаточно высокой активностью кислотообразования. К началу 6-х суток содержание сахара в сбраживаемых пленками растворах было таково, что не могло еще являться ограничивающим фактором для процесса кислотообразования.

Таблица 1

Кислотообразующая активность гриба Aspergillus niger в зависимости от смены субстрата. Кислотообразование — одни сутки (6-е от момента посева)

Способ культивирования	Образовано лимонной к-ты пленкой гриба площ. в 100 см²		Сухой вес гриба площ. в 100 см²		Получено лимонной к-ты в пересчете на 1 г сухого мицелия	
	в г	в %	в г	в %	в г	в %
Многосменный	9,28	100,0	4,55	100,0	2,04	100,0
Односменный	5,33	57,4	3,20	70,3	1,67	81,9
Бессменный	1,71	18,4	3,80	83,5	0,45	22,1

Так, под пленками многосменной культуры концентрация сахара в растворе равнялась 10,7%, под пленками односменной культуры 8,4%, а под пленками бессменной 22,9%. В данном случае несколько сниженная концентрация (на 2%) сахара в субстрате односменной культуры не имела решающего значения. В табл. 2 мы приводим цифры из нашего специального опыта, где изучалось влияние различной концентрации сахара на процесс кислотообразования на фоне повышенного содержания лимонной кислоты. Из этих данных можно видеть, что снижение кислотообразования при уменьшении концентрации сахара с 10 до 7,5% имеет место, но оно не велико и равняется 12% для молодых, а для более зрелых пленок, близких по возрасту к указанным в табл. 1, это падение не достигает и 2%. Таким образом, характерное, более низкое по сравнению с многосменной культурой, кислотообразование (на 43%) может быть связано с накоплением в субстрате односменной культуры тормозящих продуктов жизнедеятельности гриба и в первую очередь, очевидно, с накоплением лимонной кислоты. Действительно, в начале 6-го дня процесса в питающей среде многосменной культуры концентрация лимонной кислоты была равна 4,32% в то время, как у односменной она равнялась 10,63%.

Таким образом, накопившаяся лимонная кислота, очевидно, является ведущим фактором, снижающим в дальнейшем кислотообразующую активность.

Бессменная культура резко отличается от сменных наличием в субстрате до конца процесса всех минеральных элементов питания.

По нашим данным, введение в бродильный раствор питательных солей обычно резко снижает кислотообразующую способность гриба.

В табл. 3 представлены данные Терентьевой [7] по многосменной культуре (смены бродильных растворов через каждые двое суток).

Таблица 2

Кислотообразующая активность гриба Aspergillus niger в зависимости от концентрации сахара в растворе (брожение односуточное)

Время процесса	Условия питания		Накоплено лимонной к-ты пленкой гриба площ. в 100 см²	
	сахароза в %	лимонная к-та в %	в г	в %
3-е сутки	10,0	10,35	3,31	100,0
	7,5	10,35	2,91	87,9
7-е сутки	10,0	7,71	5,28	100,0
	7,5	7,82	5,19	98,3

После двух суток роста с первым бродильным раствором под пленку гриба внесено 0,5 нормы всех питательных солей, даваемых обычно на рост гриба. Через двое суток брожения этот раствор был заменен обычным бродильным раствором, не содержащим питательных солей.

Таблица 3

Влияние на кислотообразующую активность гриба Aspergillus niger питательных солей в бродильном растворе

Варианты опытов	Получено лимонной к-ты грибной пленкой площадью в 75 см²					
	за 1-й подлив (1—2 сутки брожения)		за 2-й подлив (3—4 сутки брожения)		Всего за 4 суток	
	в г	в %	в г	в %	в г	в %
Контроль	10,52	100,0	12,05	100,0	22,57	100,0
Опыт с подкормкой солями (0,5 нормы) при 1-м подливе	8,10	77,0	3,90	32,4	12,00	53,2

Уже при первом подливе подкормка снизила кислотообразование на 23%. Интересно, что тормозящее влияние солей сказывается как последействие на активности кислотообразования гриба при брожении на втором бродильном растворе, свободном от зольных элементов. Здесь кислотообразующая активность падает даже еще сильнее и при сравнении с контролем составляет только 32,4% его активности. Это близко совпадает с данными по бессменной культуре (табл. 1), кислотообразование у которой в 3 раза слабее, чем у односменной.

Так как при бессменной культуре соли в субстрате остаются до конца процесса, то мы вправе полагать, что более низкая активность бессменной культуры по сравнению с односменной зависит от наличия зольных элементов питания.

Таким образом, устанавливается определенно вредное влияние на процесс кислотообразования свободной кислоты в субстрате в сложных условиях различного культивирования кислотообразующего гриба.

В следующих опытах мы поставили себе задачу изучить вредное влияние свободной лимонной кислоты по возможности в чистом виде, исключив влияние других вышеуказанных факторов (зольных элементов, неравномерной концентрации сахара, прогрессирующего недостатка его и пр.).

Гриб Aspergillus niger, штамм № 6/5 выращивался в колбах Эрленмейера емкостью на 1 л. На эту колбу давали 200 мл питательного или бродильного растворов высотой слоя в 2 см. Площадь раствора или выращиваемой на нем грибной пленки равнялась 100 см². В 200 мл питательного раствора содержалось:

свекловичного сахара	—14,0 г
NH_4Cl	— 0,8 »
или NH_4NO_3	— 0,6 »
KH_2PO_4	— 0,1 »
$MgSO_4.7H_2O$	— 0,1 »
$FeSO_4.7H_2O$	— 0,005
и $ZnSO_4.7H_2O$	— 0,01»

После двух суток роста питательный раствор сливался и заменялся на бродильный раствор. В 200 мл бродильного раствора содержалось свекловичного сахара 30 г (15%) и 100 мг азота в виде NH_4Cl.

Опыты велись при температуре 32°. По прошествии двух суток первый бродильный раствор сливался и шел на анализ, а под грибную пленку подливался на двое суток второй бродильный раствор такого же состава и т. д. до тех пор, пока стареющий мицелий не начинал терять свою кислотообразующую способность. Процесс брожения длился до 8—10 суток.

Для выяснения роли свободной лимонной кислоты на процесс кислотообразования мы при очередном подливе под грибную пленку свежего бродильного раствора вводили в него различные количества реактивной, вновь перекристаллизованной лимонной кислоты. На таком субстрате мицелий гриба выдерживался 24 часа, а затем производился учет приросшей в результате биологического синтеза лимонной кислоты. Для более правильного и полного учета определялось также содержание кислоты в мицелии как до опыта, так и после. Было интересно проследить тормозящее влияние кислоты на кислотообразующую активность гриба различного возраста. Поэтому изучение влияния лимонной кислоты проводилось с пленками гриба двух- шести- и десятисуточного возраста.

Данные по динамике лимонной кислоты, полученные из серии опытов, представлены в сводной табл. 4. Эти данные легко убеждают нас в том, что присутствие свободной лимонной кислоты в бродильном растворе тормозит дальнейший биологический синтез ее грибом. Чем выше содержание кислоты, тем сильнее проявляется ее угнетающее действие.

Таблица 4

Кислотообразующая активность гриба Aspergillus niger различного возраста в зависимости от присутствия в бродильном растворе свободной лимонной кислоты (односуточное брожение для пленки гриба площадью в 100 см²)

Состав бродильного раствора		Возраст гриба 2 суток				Возраст гриба 6 суток				Возраст гриба 10 суток			
		выделено лимонной к-ты грибной пленкой за 3 суток				выделено лимонной к-ты грибной пленкой за 7 суток				выделено лимонной кислоты грибной пленкой за 11 суток			
сахароза в %	лимонная к-та в %	с площ. 100 см² в г	1 г сухого мицелия в г	недобор кислоты в г	в %	с площ. 100 см² в г	1 г сухого мицелия в г	недобор кислоты в г	в %	сплощ. 100 см² в г	1 г сухого мицелия в г	недобор кислоты в г	в %
10,0	0,0	4,26	1,92	0,00	100,00	8,76	1,64	0,00	100,00	5,39	0,81	0,00	100,00
10,0	2,5	3,04	1,37	1,22	71,36	7,16	1,34	1,60	81,73	4,30	0,64	1,09	79,78
10,0	5,0	2,63	1,18	1,63	61,74	6,13	1,15	2,63	70,00	3,14	0,47	2,25	58,26
10,0	10,0	1,77	0,80	2,49	41,55	4,98	0,93	3,78	56,85	2,13	0,32	3,26	39,52

По сравнению с контролем (брожение на сахарном растворе, лишенном лимонной кислоты) кислотообразующая активность гриба уже при 2,5% содержании лимонной кислоты падает на 18,27—28,64%. По мере увеличения содержания кислоты в субстрате слабеет продуцирование ее грибом. Так, при 5,0% содержании кислоты синтез ее упал на 30,0—41,74%, а при 10,0% — на 43,15—60,48%.

На рис. 2 показаны кривые зависимости биологического синтеза лимонной кислоты от ее присутствия в бродильном растворе. Представлены три кривые для грибных пленок различного возраста. Активность кислотообразования пересчитана на 100 см² площади гриба.

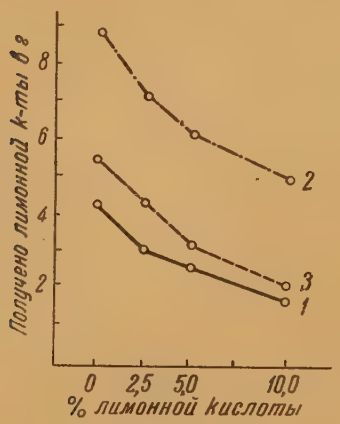


Рис. 2. Возраст гриба: *1* — 2 суток; *2* — 6 суток; *3* — 10 суток

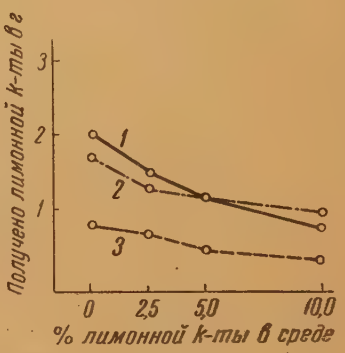


Рис. 3. Возраст гриба: *1* — 2 суток; *2* — 6 суток; *3* — 10 суток

Кривые имеют однотипный характер и показывают неуклонное падение кислотообразующей активности гриба по мере увеличения свободной лимонной кислоты в сбраживаемом растворе.

В табл. 4 мы видим, что во всех случаях мицелиальная пленка 6-суточного возраста продуцирует лимонной кислоты в 2,0—2,8 раза больше, чем пленка молодая той же площади, но двухсуточного возраста.

Активность более старой пленки 10-суточного возраста снова падает, но все же она на 20—40% выше, чем у молодой.

В абсолютных цифрах грибная пленка 6-суточного возраста более сильно реагировала на присутствие свободной лимонной кислоты в субстрате.

В процентах же относительно своего контроля 6-суточная пленка теряет свою активность меньше молодой и старой. Так, в присутствии 10% свободной кислоты ее активность падает на 43,15%. У молодой пленки соответственно имеем 58,45%, а у старой (10-суточного возраста) — 60—48%. Таким образом, на фоне повышенного кислотообразования у 6-суточного мицелия тормозящее действие свободной кислоты сказывается относительно меньше. В процентном отношении сильнее всех падает активность у старой пленки, при этом значителен и абсолютный недобор кислоты.

Рассматривая во времени динамику активности кислотообразования гриба в пересчете на единицу его веса, мы наблюдаем (табл. 4 и рис. 3), что по сравнению с мицелием двухсуточного возраста активность 6-суточного мицелия почти не изменяется. Зато у 10-суточного мицелия она резко падает и составляет около 40% активности молодого.

По нашим данным [4], дыхательный коэффициент при многосменной культуре и во время брожения долго держится выше единицы, отобра-

жая тем самым биохимические реакции синтеза более восстановленных, чем углеводы, веществ. Если это вещества плазмы, то, очевидно, идет и рост клеток.

Может быть, в данном случае фактическое увеличение кислотообразования в колбах с мицелием 6-суточного возраста по сравнению с молодым обеспечивается нарастанием живых клеток. Действительно 100 см² грибной пленки 6-суточного возраста в среднем синтезируют кислоты в 2,0—2,8 раза больше, одновременно и сухой вес ее (7,2 г) больше, чем у молодой (3,0 г), в 2,4 раза.

Таким образом, активность в пересчете на 1 г сухого мицелия практически не изменилась.

Но возможно и другое, более соответствующее истине, объяснение динамики кислотообразования гриба. Весьма вероятно, что значительное нарастание новых клеток и не происходит, но к 6-м суткам значительно усиливается (раза в два) биохимическая способность клеток к синтезу лимонной кислоты. Нарастание же веса сухого вещества гриба примерно в той же пропорции идет за счет отложения запасных веществ. В этом случае будет понятным, что несмотря на значительное увеличение продуктивности грибной пленки на колбу, активность мицелия в пересчете на единицу веса остается неизменной. Наконец, к 10-м суткам продуктивность гриба падает за счет снижения синтезирующей способности живых клеток и частичного отмирания их. Выход лимонной кислоты при этом в пересчете на 1 г сухого веса мицелия падает также и за счет продолжающегося отложения запасных, балластных веществ.

В дальнейшем нами было установлено, что тормозящее влияние свободной кислоты на процесс кислотообразования имеет место и у грибных пленок, выращенных на ином источнике азота — азотнокислом аммонии.

Принципиального отличия нет, но весьма интересно, что более прочный мицелий, выращенный на азотнокислом аммонии, во всех случаях от присутствия свободной кислоты в субстрате дал с единицы площади абсолютно большее снижение в кислотообразовании, чем гриб, выращенный на хлористом аммонии.

В чем причина падения кислотообразования, которое мы наблюдаем при наличии в бродильном растворе свободной лимонной кислоты? Угнетается ли биологический синтез ее или же ввиду высокой концентрации молекул кислоты в растворе часть их исчезает, вновь вовлекаясь в обмен веществ живой клетки гриба. Если последнее верно, то тогда угнетение биологического синтеза могло бы быть и недоказанным. Правда, известно, что обычно плесневые грибы из органической смеси предпочитают выхватывать в первую очередь углеводы и уже по их исчерпании начинают использовать и другие вещества. Для выяснения этого вопроса нами был поставлен специальный опыт с грибными пленками двухсуточного возраста.

Методика применена та же, только часть колб подливалась бродильным раствором, приготовленным не на сахарозе, а на галактозе.

Галактоза обеспечивает процессы роста, дыхания и успешно поддерживает жизнедеятельность гриба, однако лимонная кислота из нее мицелием не синтезируется.

В табл. 5 представлены опытные данные односуточного испытания (анализы Лясенковой). Из таблицы видно, что на галактозе практически отсутствовало кислотообразование. Вместе с тем жизнедеятельность мицелия протекала, очевидно, вполне успешно, о чем свидетельствует почти одинаковый количественный расход сахарозы и галактозы на общие процессы физиологии гриба (табл. 5, графа 9). Полученный прирост кислоты равный 0,36 г. произошел преимущественно за счет веществ самого мицелия.

Присутствующая в большой концентрации (7,60%) лимонная кислота

практически не тратилась мицелием в процессе его жизнедеятельности. Небольшая потеря, равная 0,14 г, слишком мала, она составляет всего 1,2% от всей данной в бродильный раствор кислоты (было дано 11,4 г лимонной кислоты на колбу) и по сути дела не выходит за пределы аналитической погрешности. Даже в том случае, если эту потерю лимонной кислоты суммировать с той кислотой, которая была обнаружена в контрольных растворах с галактозой, то и тогда максимальная потеря ее составит лишь 0,5 г, или 10,5% по отношению к кислоте, синтезированной пленкой на контрольных растворах с сахарозой. На опытных же растворах в присутствии 7,59% лимонной кислоты мы имеем более значительный недобор накапливаемой в растворе кислоты, составляющий в данном случае не 10,5%, а 35,8%.

Таким образом, свободная лимонная кислота в субстрате действительно тормозит дальнейший процесс ее синтеза из углеводов.

Таблица 5

Кислотообразование гриба Aspergillus niger на сахарозе и галактозе и выяснение влияния свободной лимонной кислоты на этот процесс (площадь грибной пленки 75 см²)

Источник углевода в бродильном растворе	Состав бродильного раствора		Получено через 24 часа лимонной к-ты		Прирост мицелия в г	Количество использованного углевода в г	
	углеводы в %	лимонная к-та в %	в г	в %		всего	за вычетом пошедшего на образование лимонной к-ты
Сахароза	10,30	0,00	+4,78	100,0	1,33	6,39	2,50
	10,30	7,59	+3,07	64,2	1,30	4,85	2,35
Галактоза	9,77	0,00	+0,36	7,5	1,02	2,94	2,65
	9,77	7,60	—0,14	—	1,26	2,54	2,54

В чем же заключается сущность торможения дальнейшего биосинтеза лимонной кислоты при накоплении последней в субстрате?

Как уже было указано выше, согласно данным некоторых авторов, известное повышение концентрации водородных ионов в субстрате способствует образованию лимонной кислоты.

Но возможно, что очень резкое падение величины pH, которая устанавливается в растворе при накоплении пленкой гриба значительных количеств лимонной кислоты, не только не способствует дальнейшему образованию ее, а, наоборот, будет создавать условия, ограничивающие продолжение активного процесса.

По нашим данным, Aspergillus niger уже после двух суток роста на среде Роллена смещает pH среды с 5,7 до 2,0—1,8. Хорошо кислотообразующая пленка гриба, помещенная на свежий сахарный раствор, повышает активную кислотность среды еще быстрее, смещая величину pH в течение одного часа с 6,7 до 2,2—2,4.

В табл. 6 приведены данные, характеризующие изменение титруемой кислотности и величины pH раствора грибной пленкой двухсуточного возраста, помещенной на свежий сахарный раствор.

Практически уже с самого начала жизнедеятельность кислотообразующей пленки, помещенной на свежий сахарный раствор, протекает в условиях высокой концентрации водородных ионов. Дальнейшее падение величины pH с 2,4 до 1,6 в течение 23 часов не вызывает значительных изменений в активности кислотообразования. Так, если за первые три часа титруемая кислотность достигла 0,4% (pH = 2,4—2,0), то

Таблица 6

Изменение pH бродильного раствора за 1-е сутки кислотообразования у гриба Aspergillus niger

Длительность процесса в часах	0 (исходная)	1	2	3	6	9	12	18	24
Кислотность раствора в % (в лимонной к-те)	0,00	0,10	0,19	0,40	0,94	1,70	1,80	2,57	3,28
pH раствора	6,70	2,40	2,20	2,00	1,90	1,85	1,70	1,70	1,60

к 24 часам (pH = 1,9—1,6) она возросла в 8 раз (до 3,28%), пропорционально времени. В специальном опыте (анализы сотрудника Лясенковой) изучалась роль свободной лимонной кислоты и влияние pH раствора на процесс кислотообразования. Гриб четырехсуточного возраста помещался на сахарные растворы, которые в одной серии колб содержали различные концентрации лимонной кислоты, а в другой подкислялись небольшим количеством соляной кислоты до величины pH, соответствующей заданным концентрациям лимонной кислоты.

Таблица 7

Влияние величины pH сбраживаемого раствора на процесс кислотообразования у гриба Aspergillus niger (площадь пленки гриба 80 см²)

Дано в бродильном растворе		pH бродильного раствора	Синтезировано лимонной к-ты за 24 часа	
лимонной к-ты в %	соляной к-ты в %		в г на колбу	в % по отношению к контролю
—	—	6,7	6,805	100,00
0,5	—	2,5	6,795	99,85
2,5	—	2,1	5,840	85,82
5,0	—	2,0	5,270	77,45
7,5	—	1,8	4,405	64,74
10,0	—	1,7	3,660	53,80
—	0,026	2,5	6,850	100,67
—	0,065	2,1	6,490	95,38
—	0,077	2,0	6,575	96,62
—	0,090	1,8	6,505	95,59
—	0,100	1,7	6,330	93,03

Из табл. 7 видно, что pH, установленное соляной кислотой в пределах 2,5—1,7, вызывает лишь незначительное снижение активности кислотообразования (при pH = 2,1 на 4,5%, при pH = 1,7 на 6,97%), которая представляет прямую с незначительным уклоном.

В присутствии же лимонной кислоты в концентрациях, соответствующих тем же значениям pH, кривая активности кислотообразования резко падает (при pH = 2,1 на 14,2%, при pH = 1,7 на 46,2%) и представляет прямую, круто направленную вниз (рис. 4).

На основании этих данных можно считать, что наблюдаемое нами явление угнетения процесса кислотообразования в первую очередь и главным образом зависит не от величины pH, а от присутствия в растворе ионов самой лимонной кислоты. И чем больше концентрация

лимонной кислоты в растворе, тем в большей степени слабеет, очевидно, последнее звено в общей цепи реакции биосинтеза лимонной кислоты в живых клетках гриба.

Очевидно, с одной стороны, высокая концентрация лимонной кислоты просто в силу химического закона действующих масс замедляет скорость реакции дальнейшего синтеза ее, а с другой,— она начинает действовать уже токсически на живые клетки гриба, вызывая в организме процессы, связанные с преждевременным старением и снижением способности к кислотообразованию.

Это видно также из следующего опыта (анализы Забелиной), представленного в табл. 8. Здесь изучалось последействие свободной лимонной кислоты в бродильном растворе на кислотообразующую способность мицелия при переводе его на

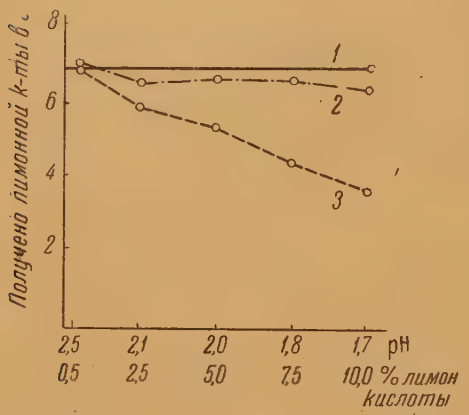


Рис. 4. *1* — контроль; *2* — с добавлением соляной кислоты; *3* — с добавлением лимонной кислоты

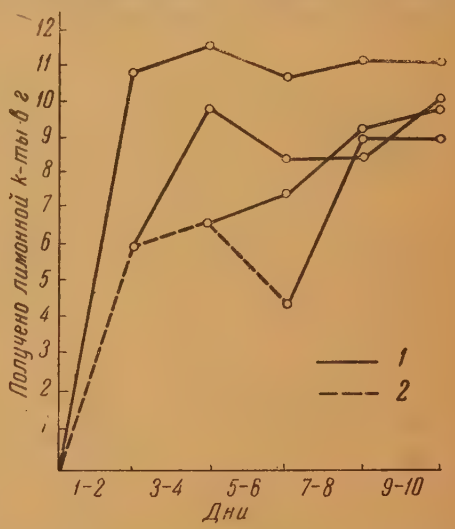


Рис. 5. *1* — на чистом сахаре; *2* — с добавлением лимонной кислоты

последующие бродильные растворы, уже лишенные кислоты. Бродильные растворы содержали 15% сахара (с азотом). После двух суток пребывания под пленкой гриба они сливались и под пленку подливались новые растворы. Всего было сделано пять подливов (10 суток брожения).

Добавление в первый бродильный раствор 7,5% лимонной кислоты снизило кислотообразование по сравнению с контролем на 44,1%. На втором бродильном растворе без лимонной кислоты мицелий гриба, несмотря на общий подъем кислотообразования, синтезировал кислоты на 15,1% меньше, чем контрольный. На 3 и 4-м бродильных растворах кислотообразующая способность остается низкой и только на 5-м растворе наблюдается подъем кривой (рис. 5). Однако и здесь опытная пленка дала на 9,5% лимонной кислоты меньше, чем контрольная. Таким образом, вредное влияние присутствующей лимонной кислоты сказывается на мицелии и проявляется в дальнейшем даже на средах, лишенных кислоты. Мицелий на длительное время снижает свою способность к биологическому синтезу лимонной кислоты.

Такое же снижение активности гриба мы наблюдаем в 3-м варианте, где лимонная кислота была введена повторно.

В 4-м варианте трижды подливался бродильный раствор, содержащий лимонную кислоту. В этом случае особенно сильно проявилось непосредственное угнетающее действие кислоты на 3-м подливе. Активность гриба упала на 57,8%. Непосредственное угнетающее влияние свободной лимонной кислоты было настолько значительно, что при переводе

Таблица 8

Последействие лимонной кислоты, добавленной в бродильный раствор, на кислотообразующую способность мицелия Aspergillus niger при переводе его на растворы, лишенные кислоты (площадь грибной пленки 80 см²)

№ варианта	Количество подливов бродильных растворов, содержащих лимонную к-ту	Кислотообразование по подливам													
		1-й подлив (1—2 сутки брожения)		2-й подлив (3—4 сутки брожени)		3-й подлив (5—6 сутки брожения)		4-й подлив (7—8 сутки брожения)		5-й подлив (9—10 сутки брожения)		Всего за 10 суток брожения		Сухой вес мицелия в конце опыта	
		в г	в %	в г	в %	в г	в %	в г	в %	в г	в %	в г	в %	в г	в %
1	Контроль	10,57	100,0	11,16	100,0	10,46	100,0	10,85	100,0	11,03	100,0	54,07	100,0	7,81	100,0
2	Введено 7,5 % лимонной к-ты с 1-м бродильным раствором	5,91	55,9	9,58	84,9	8,22	78,2	8,28	76,3	9,98	90,5	41,97	77,6	9,56	122,3
3	Введено 7,5% лимонной к-ты с 1 и 2-м бродильными растворами	5,91	55,9	6,56	58,8	7,31	69,9	9,01	83,0	9,91	89,8	38,70	71,6	9,68	123,9
4	Введено 7,5% лимонной к-ты с 1, 2 и 3-м бродильными растворами	5,91	55,9	6,56	58,8	4,41	42,2	8,85	81,5	9,00	81,6	34,73	64,2	9,93	127,1

на четвертый обычный бродильный раствор, кислотообразующая способность гриба подобно освободившейся пружине быстро подскочила вверх, хотя и не достигла контроля.

Из этих опытов видно, что угнетение процесса кислотообразования зависит не только от того, что значительные количества лимонной кислоты, накапливающейся в сфере реакций, своим присутствием замедляют дальнейшую скорость ее синтеза, но и от вредного токсического влияния кислоты на деятельность живых клеток гриба. Последнее влияние длительно и вполне ощутимо проявляется как последействие, вызывая снижение кислотообразующей активности мицелия на растворах, уже свободных от кислоты.

На основании проведенных исследований можно утверждать, что из всех возможных продуктов жизнедеятельности, выделяемых в субстрат пленкой гриба Aspergillus niger и тормозящих процесс кислотообразования, ведущим и наиболее сильным фактором является сама лимонная кислота, синтезируемая грибом. Чем больше накапливается кислоты в растворе, тем слабее протекает процесс кислотообразования (падая на 20—50%).

Снижение кислотонакопления в растворе доказывается прямыми опытами, проведенными на бродильных растворах, предварительно обогащенных лимонной кислотой.

Возможно было бы объяснить такое значительное падение кислотонакопления вторичным вовлечением образующейся лимонной кислоты в обмен веществ гриба, однако исследования, проведенные на средах, содержащих в качестве источника углеродного питания галактозу, лишний раз свидетельствуют о том, что присутствующие в растворе углеводы защищают лимонную кислоту от потребления ее грибом.

Приведенные нами данные о влиянии на процесс кислотообразования величины pH сбраживаемого раствора исключают первостепенное значение и этого фактора.

Таким образом, становится ясным, что торможение дальнейшего биосинтеза лимонной кислоты клетками гриба зависит главным образом от присутствия в растворе высоких концентраций свободной лимонной кислоты и происходит, очевидно, в силу химического закона действующих масс.

Весьма вероятно, что при этом задерживается последнее звено в цепи химических реакций сложного, пока еще не расшифрованного процесса биосинтеза лимонной кислоты.

Интересно отметить, что накопленная в больших концентрациях лимонная кислота не только тормозит процесс биосинтеза своим присутствием, но и действует токсически, длительно растраивая синтезирующую способность мицелия и вызывая падение кислотообразования грибом, даже на новых сахарных растворах, уже свободных от лимонной кислоты.

Если основной причиной, тормозящей процесс кислотообразования, является накопление в субстрате высоких концентраций свободной лимонной кислоты, то выведение ее из сферы реакций должно стимулировать кислотообразование. Достигнуть этого можно путем периодической (частичной) нейтрализации лимонной кислоты, а также путем периодического сливания полусброженных растворов по принципу частых смен.

При нейтрализации важно, чтобы нейтрализующее вещество и продукт нейтрализации сами не угнетали жизнедеятельность гриба.

По нашим данным, лимонная кислота в качестве единственного источника питания углеродом является мало пригодной для первоначального роста гриба. Добавление же ее к раствору сахарозы заметно улучшает рост гриба. Нами было показано, что выросшая и голодающая пленка, помещенная на раствор лимонной кислоты, начинает энер-

гично потреблять последнюю, главным образом на процессы дыхания и в меньшей степени на прирост своего веса [5].

Позднее Трофимова [8] нашла, что в присутствии лимонной кислоты на растворе глюкозы происходит увеличение веса мицелия и повышение экономического коэффициента использования органического вещества.

Поэтому было бы неверно утверждать, что лимонная кислота не может вновь вовлекаться в обмен веществ. При наличии достаточного запаса углеводов в первые сутки брожения этого практически не происходит, но при затягивании процесса сопровождающимся истощением запаса углеводов имеются все основания полагать, что лимонная кислота вновь потребляется мицелием гриба.

В наших опытах по изучению последействия лимонной кислоты, введенной под пленку гриба, мы наблюдали после добавления кислоты прирост веса мицелия на 23—27% (табл. 8).

Роль лимонной кислоты в процессах роста и обмена веществ гриба еще мало изучена. Этот вопрос является предметом наших дальнейших исследований, о результатах которых будет сообщено особо.

Выводы

1. При работе с готовыми пленками гриба Aspergillus niger процесс кислотообразования ведется на специальных сахарсодержащих средах, лишенных минеральных питательных (за исключением азота) солей. По мере накопления в растворе лимонной кислоты, даже при наличии сахара в нем и независимо от старения клеток мицелия, начинает падать кислотообразующая активность гриба. Причиной этого является накопление в субстрате продуктов жизнедеятельности гриба, тормозящих биологический синтез лимонной кислоты.

2. Основным продуктом жизнедеятельности гриба, наиболее угнетающим процесс кислотообразования, является сама синтезируемая грибом лимонная кислота; чем выше концентрация свободной лимонной кислоты в субстрате, тем сильнее тормозится процесс кислотообразования.

3. Угнетение процесса кислотообразования по мере накопления значительных количеств лимонной кислоты под грибной пленкой зависит не от величины pH сбраживаемого раствора, а главным образом от присутствия в нем свободной лимонной кислоты, которая в силу химического закона действующих масс замедляет дальнейшую скорость реакции ее синтеза, а также действует на живые клетки гриба, вызывая длительное угнетение их кислотообразующей способности. Присутствующие углеводы защищают кислоту от разрушения и лишь небольшие количества последней вовлекаясь в ростовые процессы, способствуют усиленному нарастанию мицелия.

4. Многосменная культура в сочетании с нейтрализацией представляется наиболее производительной формой ведения биохимического процесса получения лимонной кислоты.

5. Материалы настоящей работы вскрывают одну из важнейших сторон физиологического процесса кислотообразования Aspergillus niger, касающуюся влияния свободной лимонной кислоты в субстрате на ее биохимический синтез в клетках гриба. Значение этих материалов для производства заключается в том, что они дают возможность правильно определять время смены сброженных растворов и тем самым вести биохимический процесс получения лимонной кислоты на более высоком уровне и с максимальной эффективностью использования кислотообразующей активности гриба.

Всесоюзный научно-исследовательский
институт кондитерской промышленности
Ленинград

Получено 4.VIII.1949

ЛИТЕРАТУРА

1. Бернгауер К. Окислительные брожения, 1935.
2. Буткевич В. Über die Bildung der Citronensäure in den Kulturen von Aspergillus niger und Penicillium glaucum auf Zucker. Biochem. Z., **136**, 224, 1923.
3. Буткевич В. Über die Bildung der Glucon- und Citronensäure in den Pilzkulturen auf Zucker. Biochem. Z., **154**, 177, 1924.
4. Журавский Г. И. О газообмене Aspergillus niger при образовании лимонной кислоты. Микробиология, VIII, 414, 1939.
5. Журавский Г. И. Газообмен и образование лимонной кислоты у гриба Aspergillus niger. Диссертация. Ленинградский гос. университет, 1939.
6. Кирсанова В. А. Влияние нейтрализации сбраживаемых растворов на кислотообразование гриба Aspergillus niger. Биохимия, **1**, 425, 1936.
7. Терентьева О. Ф. Изучение солевого режима для кислотообразующего гриба рода Aspergillus. Отчет Всесоюзн. кондитерск. научно-иссл. ин-та, 1947.
8. Трофимова Е. И. Значение лимонной кислоты в обмене веществ у Aspergillus niger. Микробиология, X, 730, 1941.
9. Amelung H. Beitrage zur Säurebildung durch Aspergillus niger, Z. physiol. Chem., **166**, 161, 1927.
10. Bernhauer K. Über die Säurebildung durch Aspergillus niger. IV Mitteilung: «Die Bedeutung Mycelentwicklung für die Säurebildung». Biochem. Z., **197**, 305. 1928.
11. Buchner E. u. Wüstenfeld H. Über Citronen Säuregärung durch Citromyceten, Biochem. Z., **17**, 395, 1909.
12. Frey A. Beziehungen zwischen der Wasserstoffionenkonzentration und der Citronensäurebildung durch Aspergillus niger und Citromyces glaber. Arch. Mikrob., **2**, 273, 1931.

НОВЫЕ ДАННЫЕ В ИЗУЧЕНИИ АНТИБИОТИКОВ

(Обзор)

Г. Ф. Гаузе

Настоящий обзор посвящен рассмотрению некоторых новейших успехов в изучении антибиотических веществ, представляющих общетеоретический интерес, а также прокладывающих новые пути для испытания и изучения антибиотиков в клинической практике.

1. Антибиотики полипептидной природы

Изыскания новых антибиотиков в течение последних лет привели к получению целого ряда антибиотиков полипептидной природы. Некоторые из этих антибиотиков удалось получить в кристаллическом виде, и, таким образом, биохимикам впервые стали доступны для исследования сравнительно простые кристаллические полипептиды, которые ранее никогда не удавалось выделить из животных или растительных источников. Изучение химического строения этих полипептидов показало, что отдельные аминокислоты расположены в них не в виде вытянутых цепочек, а в виде замкнутых колец или циклов. Таким образом, теория циклической связи аминокислот в молекуле белка, впервые выдвинутая и разработанная советскими учеными — Зелинским и Гавриловым [4], получила полное подтверждение при изучении строения антибиотиков полипептидной природы. В связи с большим теоретическим значением изучения этих антибиотиков для проблемы строения белка мы остановимся здесь на них более подробно.

Антибиотики полипептидной природы образуются главным образом различными почвенными споровыми аэробными бактериями. Здесь можно упомянуть бацитрасин из культур сенной палочки Bacillus subtilis, сравнительно мало токсичный антибиотик, эффективный при лечении экспериментальных инфекций у животных, вызванных стрептококками. Молекула бацитрасина представляет собой полипептид, состоящий по меньшей мере из 9 аминокислот: изолейцина, аспарагиновой кислоты, фенил-аланина, лейцина, глютаминовой кислоты, лизина, гистидина, цистина и орнитина.

Более простым строением обладает советский грамицидин — кристаллический полипептид, состоящий из 5 аминокислот, химическая природа которого была впервые изучена Белозерским и Пасхиной (Знаменская, Агатов и Белозерский [10]). В состав советского грамицидина входит 5 аминокислот, связанных друг с другом в виде кольца: валин, орнитин, лейцин, фенил-аланин и пролин.

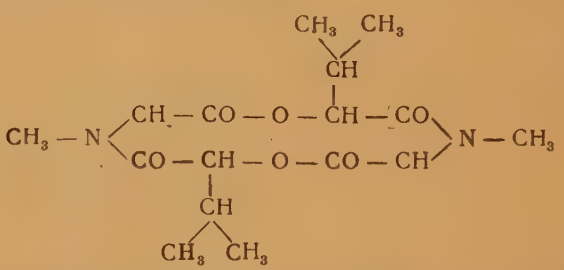
Интересно отметить, что связь отдельных аминокислот в виде кольца в молекуле грамицидина С имеет решающее значение для антибактериального действия этого вещества. Удалось приготовить синтетический пентапептид, состоящий из тех же самых 5 аминокислот, которые входят в состав грамицидина С, в той же самой оптической конфигурации. Однако в синтетическом пентапептиде отдельные аминокислоты были связаны друг с другом в виде открытой цепочки, а не в виде кольца. Испытание антибактериальных свойств этого синтетического полипептида

показало, что он лишь очень слабо действует на микробов. Для подавления роста стафилококков требуется 2000 γ синтетического полипептида в 1 мл по сравнению с 1 γ грамицидина С в 1 мл. Следовательно, синтетический препарат действует в 2000 раз слабее природного антибиотика. Отсюда можно заключить, что синтетические пентапептиды с открытой цепью весьма мало активны в антибиотическом отношении, тогда как такие же полипептиды циклического строения обладают очень сильным действием. Следовательно, антибактериальное действие советского грамицидина неразрывно связано с циклическим строением молекулы этого вещества. Цикл грамицидина С включает 4 молекулы природной l-конфигурации и одну молекулу неприродной d-конфигурации (фенилаланин).

Циклическим строением обладает и другой антибиотик полипептидного типа, извлеченный из культуры плесени Fusarium. Этот антибиотик был назван энниатином [31] на основании подвидового названия плесени, образующей это вещество (Fusarium orthoceras var. enniatum). Он образуется также и другим видом плесени — Fusarium lateritium.

Энниатин нетрудно получить в кристаллическом виде, так как он очень плохо растворим в воде и хорошо растворим в большинстве органических растворителей. Энниатин специфически подавляет рост туберкулезных палочек in vitro.

При кислом гидролизе энниатина из него была выделена «неприродная» оптическая форма *d* — α-окси-изовалериановой кислоты и обычный изомер *N*-метил-*l*-изолейцина. Изучение строения этого антибиотика показало, что он представляет собой циклическое пептидообразное тело с 12-членным кольцом следующего типа:



В циклической пептидообразной структуре этого антибиотика аминокислоты частично замещены оксикислотами неприродной конфигурации [31]. В состав цикла входят аминокислоты природной l-конфигурации и оксикислоты неприродной d-конфигурации. Таким образом, циклическое строение энниатина и чередование в его цикле l и d-форм молекул указывают на наличие общих моментов в структуре энниатина и в структуре советкого грамицидина. Изучение химической природы этих антибиотиков представляет существенный вклад в разработку проблемы строения белка и блестяще подтверждает теорию циклической связи аминокислот, впервые выдвинутую Зелинским и Гавриловым [4].

2. О «семействах» сходных антибиотиков

Изучение новых антибиотиков полипептидной природы приводит также к важному представлению о том, что в природе широко распространены «семейства» антибиотиков, включающие в себя ряд сходных веществ, одинаковых по основным свойствам и различных по деталям своего химического строения.

В связи с этим мы можем рассмотреть группу полимиксинов — антибиотиков, образуемых почвенными споровыми палочками. Bacillus polymyxa, которые подавляют рост некоторых грамотрицательных бактерий [23]. Из различных штаммов бактерий этого вида был выделен ряд

близких антибиотиков. Все они могут быть извлечены из культуральной жидкости по типу получения стрептомицина, подавляют кишечную палочку, слабо диффундируют в агаре, мало токсичны и при парэнтеральном применении расщепляются в организме и не выделяются с мочой.

Изучение химических свойств полимиксинов показало, что все они являются полипептидами, однако вещества, образуемые различными штаммами бактерий, отличаются друг от друга по аминокислотному составу [23]. Аминокислотный состав различных полимиксинов представлен в таблице.

Таблица

Название полимиксина	Аминокислотный состав				
	лейцин	фенил-аланин	треонин	серин	диаминомасляная кислота
A	+	—	+	—	+
B	+	+	+	—	+
C	—	+	+	—	+
Д	+	—	+	+	+
E	+	—	+	—	+

Как показывает таблица, в состав всех полимиксинов входят треонин и диаминомасляная кислота. Однако три другие аминокислоты (лейцин, серин и фенил-аланин) не являются обязательными составными частями молекулы антибиотика и специфичны для отдельных вариантов полимиксина различного происхождения.

Для клинициста весьма существенно, что различные варианты полимиксина, принадлежащие к одному и тому же семейству сходных антибиотиков, тем не менее существенно различаются друг от друга по своим фармакологическим свойствам. Полимиксины А, С и Д обладают сильным токсическим действием на почки при парэнтеральном применении. Однако полимиксины В и Е лишены нефротоксического действия. Эти наблюдения доказывают, что в пределах одного и того же семейства сходных антибиотиков могут быть обнаружены существенные фармакологические различия, в результате которых один вариант может оказаться ценным лечебным веществом, а другой вариант может быть вовсе непригоден для использования его в клинике.

Сходные закономерности наблюдались также в группах пенициллина и стрептомицина, и они носят, повидимому, довольно общий характер. Как известно, вариант пенициллина, обозначаемый буквой К (гептилпенициллин) значительно менее эффективен в клинике, чем пенициллин G (бензил-пенициллин). Пенициллин К крайне быстро разрушается каким-то термолабильным энзимом, содержащимся в сыворотке крови и в тканях различных органов, тогда как пенициллин G является стойким телом и не разрушается этим энзимом [6, 20].

В группе стрептомицинов описано два варианта: обычный стрептомицин А и стрептомицин В или маннозидострептомицин, в молекулу которого дополнительно входит манноза. Как оказалось, стрептомицин В в три раза слабее действует на бактерий, чем стрептомицин А.

Любопытно отметить, что некоторые штаммы лучистого грибка Act. griseus образуют лишь стрептомицин А, а другие штаммы лишь стрептомицин В. Штаммы грибка, образующие стрептомицин А, обладают также особым энзимом, способным отщеплять маннозу от молекулы стрептомицина В и превращать таким образом стрептомицин В в стрептомицин А. Этот энзим был назван маннозидострептомициназой. Он встречается лишь у штаммов грибка, образующих стрептомицин А, и

его нельзя обнаружить как среди штаммов, неспособных образовывать стрептомицин, так и в культурах других лучистых и плесневых грибков. Если к бесклеточному фильтрату культуры активного штамма Act. griseus, образующего стрептомицин А, добавить стрептомицин В, то присутствующий в культуре энзим произведет гидролитическое отщепление маннозы от молекулы стрептомицина В и тем самым превратит стрептомицин В в стрептомицин А. В результате превращения менее активной формы В в более активную форму А, антибиотическая активность раствора повысится при этом приблизительно в три раза.

3. Новое в изучении пенициллина

Новые теоретические работы по изучению лечебных свойств пенициллина показывают большое значение состояния макроорганизма для эффективности пенициллинотерапии. При различных иммунологических состояниях макроорганизма результаты пенициллинотерапии неодинаковы.

В самом деле, какова роль защитных сил макроорганизма при лечении антибиотиками? Как показывают классические исследования Мечникова, защитные силы макроорганизма всегда играют решающую роль в развитии инфекционного процесса. В свете этих идей недавно были поставлены опыты на крысах как нормальных, так и ослабленных в результате длительного пребывания на безбелковой диэте [33]. В обеих группах животных создавалась экспериментальная пневмококковая инфекция и затем испытывались лечебные свойства пенициллина.

Пенициллинотерапия пневмококковой инфекции у нормальных крыс оказалась значительно более успешной, чем пенициллинотерапия крыс, живущих на безбелковой диэте. В первой группе животных микробы исчезли из крови и тканей уже через несколько часов после начала лечения, а во второй группе они удерживались в течение многих дней, несмотря на лечение пенициллином. Курс пенициллинотерапии в обоих случаях был одинаков. Вся разница заключалась в том, что у крыс на безбелковой диэте была резко снижена способность к образованию антител и фагоцитарная активность. Таким образом, иммунологическое состояние организма имело важнейшее значение для эффективности пенициллинотерапии.

На основании этих данных следует сделать тот вывод, что антибиотическая терапия должна быть комплексной и что следует принимать все меры к усилению защитных сил макроорганизма.

Другое интересное наблюдение связано с оптимальной концентрацией пенициллина, выше и ниже которой антибактериальное действие этого вещества значительно понижается [25]. Этот факт на первый взгляд кажется парадоксальным — при повышении концентрации пенициллина сверх определенного оптимума действие его на стафилококков и стрептокков ослабевает. Так, например, в случае некоторых штаммов стрептоккоков 2 γ пенициллина в 1 мл бульона еще недостаточно для подавления микробов; 4—6 γ пенициллина дают максимальный эффект; при повышении содержания пенициллина до 8 γ в 1 мл и выше действие его на бактерии значительно ослабевает. Эти опыты ставились с кристаллическим препаратом пенициллина G, и какие-либо примеси не могли здесь играть никакой роли. При действии пенициллина на стафилококков наблюдается сходная закономерность [25], которая представлена на рисунке. Несомненно, что явление оптимума связано с самим механизмом действия пенициллина на бактерий и аналогичная закономерность наблюдается также и у других кристаллических вариантов пенициллина — K и X. Механизм этого явления сейчас еще не вполне ясен, и дальнейшая экспериментальная и клиническая разработка проблемы оптимальных дозировок пенициллина является весьма существенной.

Что касается механизма действия пенициллина на обмен веществ бактериальной клетки, то по этому вопросу в настоящее время продолжается накопление нового ценного экспериментального материала [3, 7, 8, 9, 13, 15, 19, 21]. Так, например, было установлено, что у стафилококков, погибающих под действием пенициллина, резко нарушается обмен нуклеиновых кислот. Это находит свое отражение в том, что

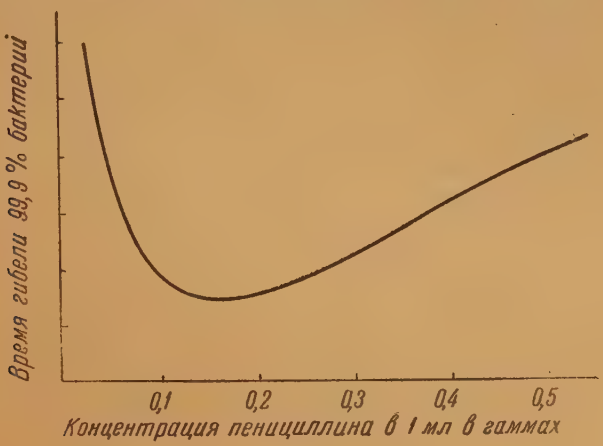


Рис. 1

у стафилококков, подвергнутых действию пенициллина, резко повышается процент экстрагируемых нуклеотидов, повидимому за счет снижения скорости их полимеризации, а не за счет усиления синтетических процессов. Однако еще предстоит доказать, что этот процесс носит первичный характер, а не является лишь следствием первичного поражения обмена веществ бактериальной клетки пенициллином на каком-то другом этапе.

В связи с этим особенно большой интерес представляет изучение обмена веществ микроорганизмов, приобретающих устойчивость к пенициллину под действием этого антибиотика. Как было установлено, стафилококки, чувствительные к пенициллину, нуждаются в ассимиляции аминокислот из окружающей их питательной среды. Те же стафилококки, ставшие устойчивыми к пенициллину в результате воздействия на них этим антибиотиком, теряют необходимость ассимилировать аминокислоты из окружающего раствора и приобретают способность синтезировать их внутри клетки за счет сахара и минеральных солей. Эти наблюдения показывают, что пенициллин специфически подавляет какую-то фазу ассимиляции необходимых бактериальной клетке аминокислот.

В последнее время были получены новые экспериментальные данные, подтверждающие эту точку зрения. Так, например, обычная грамотрицательная патогенная бактерия Salmonella typhimurium является типичной гетеротрофной формой, которая не нуждается в поглощении аминокислот из окружающей среды для своего питания.

Вместе с тем эта бактерия весьма устойчива к пенициллину. Однако в лабораторных условиях из культур этой сальмонеллы могут быть выведены варианты, утерявшие способность синтезировать аминокислоту цистеин и не способные расти при отсутствии цистеина в питательной среде. Такие варианты Salmonella typhimurium, нуждающиеся в ассимиляции цистеина из окружающего раствора, становятся одновременно весьма чувствительными к действию пенициллина.

Несмотря на большой интерес и убедительность этих данных, многие особенности действия пенициллина на бактерий до настоящего времени еще не получили разъяснения. Так, например, почему пенициллин так сильно подавляет рост сенной палочки — типичной гетеротрофной бак-

терии, которая может синтезировать внутри клетки все необходимые ей для роста органические вещества за счет глюкозы и минеральных солей?

В последнее время накапливается все больше данных о том, что чувствительность к пенициллину зависит от обмена веществ бактерии и может быть изменена при изменении этого последнего. Так, например, устойчивая к действию пенициллина кишечная палочка при росте вместе со стафилоккоками становится чувствительной к пенициллину [28]. Оказывается, что для придания кишечной палочке чувствительности к пенициллину достаточно добавить к ее культуре небольшое количество экстракта из тел стафилококков, содержащего рибонуклеиновую кислоту. С помощью рибонуклеиновой кислоты можно превратить пенициллиноустойчивую кишечную палочку в пенициллиночувствительную форму [28]. Возможно, что пенициллин и в этом случае специфически блокирует процесс ассимиляции бактериями внесенной в питательную среду рибонуклеиновой кислоты. Эти интересные закономерности нуждаются в углубленном дальнейшем изучении.

4. Новое в изучении стрептомицина

Существенный интерес представляют недавно опубликованные новые пути очистки стрептомицина от сопровождающих его балластных веществ [29]. Обычно чистота антибиотика значительно повышается в случае извлечения его из водной фазы в какой-либо не смешивающийся с водой органический растворитель. Как известно, в случае пенициллина для этого пользуются амилацетатом или хлороформом. Однако стрептомицин долгое время не удавалось перевести из воды в органические растворители из-за исключительно большой гидрофильности молекулы стрептомицина.

Принципиально новый путь заключается в использовании «переносчиков», способных оторвать молекулу стрептомицина от молекул воды и перевести ее в органический растворитель [29]. Такой переносчик должен обладать следующими свойствами.

1. Он должен вступить в обратимую связь с функциональными группами антибиотика, в данном случае с основными группами стрептомицина.

2. Он должен обладать достаточно длинной цепочкой углеродных атомов, чтобы комплекс, образовавшийся после соединения молекулы переносчика с молекулой антибиотика, стал лучше растворимым в органическом растворителе, чем в водной фазе, и, таким образом, был способен «вытянуть» молекулу стрептомицина из воды в органический растворитель.

Обоими упомянутыми свойствами обладают так называемые детергенты, которые и были использованы при очистке стрептомицина. В литературе описано использование жирных кислот с длинной цепочкой углеродных атомов, а также алкил-сульфоновых кислот (например, додециловой). Если использовать раствор лауриновой кислоты в амиловом спирту, то стрептомицин перейдет из воды в амиловый спирт при pH = 6,5. Если же воспользоваться 5% раствором стеариновой кислоты в амиловом спирту, то наилучшие условия для перехода стрептомицина из водной фазы в этот органический растворитель будут лежать при pH = 9,0. Несомненно, что использование «переносчиков» при очистке стрептомицина представляет существенный интерес и может быть использовано также и при работе с другими антибиотиками. Микробиологическому изучению стрептомицина в последнее время был посвящен ряд работ [16, 17, 18].

Характерным свойством стрептомицина является чрезвычайо легкое привыкание к нему бактерий и выработка стрептомициноустойчивых форм. Особенно разительные результаты удается наблюдать в том случае,

когда под действием стрептомицина вырабатываются стрептомициноустойчивые формы хромогенных бактерий, которые резко отличаются по своему внешнему виду и обмену веществ от исходных чувствительных микробов. Так, например, стрептомициноустойчивая форма синегнойной палочки теряет способность к образованию голубого пигмента, у нее резко снижается скорость роста и активность дигидразы. Интересно отметить, что стрептомициноустойчивая форма евглены (Euglena gracilis) теряет способность к образованию хлорофилла. Это доказывает, что привыкание к антибиотику связано с изменением обмена веществ микроорганизма.

В некоторых случаях под действием стрептомицина вырабатываются не только стрептомициноустойчивые, но даже стрептомицинозависимые формы бактерий, которые не могут существовать при отсутствии этого антибиотика в питательной среде. Так, например, культивируя кишечную палочку на среде со стрептомицином, можно вывести культуру, требующую стрептомицин для своего роста и неспособную расти в отсутствие последнего.

Из таких стрептомицинозависимых штаммов кишечной палочки можно извлечь некоторую пользу, так как они позволяют легко идентифицировать стрептомицин. Если мы прибавим стрептомицин к питательному бульону и засеем его стрептомицинозависимой культурой кишечной палочки, то последняя будет отлично размножаться; если же прибавленный для испытания препарат был отличен от стрептомицина, то кишечная палочка развиваться не будет. Этим путем можно легко обнаружить стрептомицин в культуральной жидкости различных грибков, выделяемых из почвы, что значительно облегчает изыскание новых активных продуцентов стрептомицина.

Однако легкое привыкание бактерий к стрептомицину приносит в общем гораздо больше разочарований для клинициста, чем пользы для микробиолога. Многие виды быстро растущих патогенных микробов так быстро приобретают устойчивость к стрептомицину, что дальнейшее лечение инфекции этим препаратом становится совершенно бесполезным. Хорошо лишь, что у медленно растущей туберкулезной палочки скорость привыкания к стрептомицину значительно меньше.

Скорость привыкания бактерий к стрептомицину имеет жизненно-важное значение для выбора рационального курса стрептомицинотерапии. Обычно результаты стрептомицинотерапии при туберкулезе сказываются после 6—7 недель лечения, и если к этому времени основная масса бактерий оказывается подавленной антибиотиком и выживет лишь небольшое число стрептомициноустойчивых форм, то последние в общем не мешают общему клиническому улучшению состояния больного.

Развитие стрептомициноустойчивых форм туберкулезной палочки вполне совместимо с клиническим улучшением и выздоровлением больного при лечении стрептомицином потому, что общая численность бактерий в тканях резко уменьшается под действием стрептомицина, а оставшиеся устойчивые формы туберкулезных палочек подавляются защитными силами организма [14]. Однако, если эти стрептомициноустойчивые формы туберкулезных палочек будут перенесены к другому лицу и вызовут у него заболевание, то этот новый случай уже не будет поддаваться лечению стрептомицином, так как с самого начала здесь не будет стрептомициночувствительных микробов. Это явление таит в себе серьезные опасности для дальнейших успехов стрептомицинотерапии и заставляет пользоваться этим препаратом только в тех случаях, когда стрептомицинотерапия действительно показана. В противном случае мы будем лишь способствовать распространению стрептомициноустойчивых форм туберкулезной палочки.

К недостаткам стрептомицина относится также и его побочное действие на вестибулярный аппарат, однако в последнее время наметился

путь для получения менее токсичного препарата. Раньше думали, что токсичность стрептомицина зависит от примесей, но теперь установлено, что побочные действия наблюдаются и у вполне чистого препарата. Вместе с тем оказалось, что небольшое химическое изменение молекулы стрептомицина может понизить токсичность, без ослабления его антибиотических свойств. Такой результат получается при каталитическом гидрировании стрептомицина, в результате которого образуется дигидрострептомицин [26]. Это вещество действует на туберкулезную палочку и ряд других микробов одинаково со стрептомицином, и, к сожалению, бактерии попрежнему легко привыкают к этому веществу. Однако нейротоксическое действие, которое является серьезным недостатком при длительном клиническом применении стрептомицина, значительно понижено у дигидрострептомицина. Это понижение токсичности вполне отчетливо проявляется в клинической обстановке. При дозировках дигидрострептомицина, равных 2—3 г в день, и длительном применении при туберкулезной инфекции, не наблюдалось нарушения функций вестибулярного аппарата. Дигидрострептомицин хорошо переносится также и теми больными, которые обладают повышенной чувствительностью к стрептомицину и не переносят последнего.

Другим путем усиления эффективности стрептомицина при туберкулезе является комбинация его с иодистым-калием. Клиницистам хорошо известно, что после приема иода в мокроте больных туберкулезом появляются ранее отсутствовавшие там туберкулезные палочки. Предполагают, что иод способствует казеозному распаду туберкул, в результате которого микробы появляются в мокроте. При распаде туберкул микробы становятся более доступными для действия эффективных терапевтических средств. Ввиду этих соображений было испытано сочетанное действие иода со стрептомицином.

Испытания в пробирках показали, что растворы иодистого калия нисколько не усиливают действия стрептомицина на туберкулезных палочек. Однако опыты на морских свинках, зараженных туберкулезом, дали весьма обнадеживающие результаты. Иодистый калий давался per os в водных растворах, один раз в день, из расчета 80 мг на килограмм веса. Сам по себе иодистый калий нисколько не подавлял развития туберкулезной инфекции у морских свинок по сравнению с контрольной группой, однако иодистый калий в сочетании со стрептомицином давал значительно лучшие лечебные результаты по сравнению с лечением морских свинок одним только стрептомицином в тех же дозировках. В одной серии опытов смертность в контрольной группе составляла 100%, при лечении стрептомицином — 46%, а при лечении стрептомицином в сочетании с иодистым калием — лишь 14%.

В настоящее время необходимо проверить эти наблюдения в клинической практике. Как известно, ежедневная эффективная доза стрептомицина при лечении туберкулеза составляет около 1 г. Если эта дозировка сможет быть значительно снижена за счет комбинации стрептомицина с иодистым калием, то нежелательные побочные действия стрептомицина перестанут ощущаться, а стрептомицинотерапия туберкулеза станет значительно более эффективной.

Новой важной областью применения стрептомицина является использование его при гастроэнтеритах новорожденных, вызываемых B. paracoli, Proteus и другими грамотрицательными микробами. Эти заболевания обычно дают высокую летальность. Использование стрептомицина per os в этих случаях часто приводит к положительным результатам и быстро освобождает кишечник от грамотрицательной флоры. При таком способе применения стрептомицин обладает лишь чисто местным действием на кишечную флору, поскольку он совершенно не всасывается из желудочно-кишечного тракта. Однако такое чисто местное подавление грамотрицательной кишечной флоры у новорожденных при инфекцион-

ных гастроэнтеритах в ряде случаев приводит к клиническому улучшению состояния больного. Недостатком стрептомицина в этой области применения попрежнему является быстрое привыкание к нему кишечных бактерий. Если не удается подавить бактерий в течение первых 24 часов после начала лечения, то в дальнейшем уже трудно воздействовать на стрептомициноустойчивую флору.

5. Новые антибиотики из культур лучистых грибков

Среди новых антибиотиков, образуемых лучистыми грибками, следует отметить неомицин [30], образуемый почвенным актиномицетом Actinomyces fradiae. Культурная жидкость этого грибка подавляет рост стафилококков в разведении 1 : 300, рост кишечной палочки в разведении 1 : 60 и обладает сильным подавляющим действием также и на туберкулезную палочку. Неомицин обладает некоторыми общими свойствами со стрептомицином и может быть выделен из культуральной жидкости с помощью тех же методов, которые применяются и при получении стрептомицина. Однако неомицин отличается от стрептомицина по своему антибактериальному спектру. Подавляющее действие на стрептококков и на кишечную палочку относится у стрептомицина, как 0,6 : 1, у неомицина, как 5 : 1, а стрептотрицина, как 2 : 1. В отличие от стрептомицина, бактерии почти не образуют форм, устойчивых к действию неомицина, и в этом заключается одно из существенных преимуществ этого препарата. Неомицин весьма мало токсичен для животных и обладает хорошим лечебным действием в опытах на мышах, зараженных стафилококками и сальмонеллами.

Более углубленное изучение химической природы неомицина показало, что здесь дело идет о семействе сходных антибиотиков, подобно тому как мы это отмечали выше для пенициллина и стрептомицина. Недавно был выделен в кристаллическом виде неомицин А. Он может быть осажден из элюатов с помощью пикриновой кислоты, переведен в свободное основание и затем закристаллизован с гидроксифенил-азобензосульфоновой кислотой [30]. Чистый кристаллический хлоргидрат неомицина А дает положительную реакцию с нингидрином на аминогруппы, но в отличие от стрептомицина, не дает реакций на глюкозамин, на мальтол и на гуанидиновые группы. Таким образом, неомицин явно отличается от стрептомицина по своей химической природе. В 1 мл кристаллического хлоргидрата неомицина содержится около 650 единиц активности, устанавливаемых путем титрования на сенной палочке. По условиям определения эти единицы близки к единицам стрептомицина.

Из культур лучистого грибка Actinomyces rochei был недавно получен боррелидин [22] — антибиотик, интересный в том отношении, что он резко усиливает антиспирохетные свойства пенициллина. Боррелидин очень сильно действует на сарцин и на некоторых микрококков, но почти не подавляет роста других бактерий. Он обладает очень сильным и специфическим антиспирохетным действием, которое проявляется в организме зараженного животного. В связи с этим и название антибиотика — боррелидин — было дано по родовому наименованию спирохеты Borrelia. Прибавление очень небольших количеств кристаллического боррелидина к пенициллину резко усиливает антиспирохетные свойства пенициллина. В связи с этим предполагают, что боррелидин может иметь нечто общее со специфическими антиспирохетными веществами, обычно присутствующими в мало очищенных препаратах пенициллина и удаляемыми при более тщательной очистке этого антибиотика.

Боррелидин может быть извлечен из культуральной жидкости грибка с помощью бутил-ацетата при pH = 7,0 и затем очищен с помощью бентонита, который захватывает примеси из бутил-ацетатного раствора, но не сорбирует самого антибиотика. Затем фильтрат упаривается, остаток

растворяется в бензине и снова обрабатывается бентонитом, который обладает способностью сорбировать боррелидин из бензина. В дальнейшем боррелидин элюируется с бентонита при помощи метилового спирта. Боррелидин представляет собой кристаллическую кислоту, которая плавится при 145—146° и имеет эмпирическую формулу $C_{28}H_{43}NO_6$.

6. Новые атибиотики, подавляющие развитие риккетсий (хлоромицетин и ауреомицин)

До последнего времени не удавалось получить антибиотиков, подавляющих развитие риккетсий — типичных внутриклеточных паразитов, занимающих промежуточное положение между бактериями и фильтрующимися вирусами. Однако в последние годы были описаны антибиотик хлоромицетин [32] из лучистого гриба Actinomyces venezuelae, молекула которого содержит неионный хлор, и антибиотик ауреомицин [24] из лучистого грибка Actinomyces aureofaciens, молекула которого также содержит неионный хлор. Оба эти антибиотика подавляют развитие риккетсий и некоторых вирусов, как в эксперименте на животных, так и в клинике. Оба антибиотика хорошо всасываются из желудочно-кишечного тракта и выделяются с мочой при приеме их через рот, в отличие от стрептомицина, который вовсе не всасывается из кишечника, и пенициллина, который всасывается лишь в ограниченной степени. Как хлоромицетин, так и ауреомицин подавляют развитие реккетсий сыпного тифа. В отношении вируса лимфогранулемы ауреомицин является более активным, так как он подавляет развитие этого вируса при внутримозговом заражении мышей, тогда как хлоромицетин не действует в этих условиях.

В последнее время были получены многочисленные данные, показывающие, что ауреомицин значительно более интересен с точки зрения возможностей клинического использования, чем хлоромицетин. Лечебное действие хлоромицетина распространяется в основном только на риккетсий, тогда как ауреомицин подавляет наряду с риккетсиями также и многих грамположительных и грамотрицательных бактерий. Ауреомицин является антибиотиком с широким спектром действия [27]. Так, например, для излечения мышей, зараженных пневмококками достаточно трехкратных подкожных инъекций ауреомицина, тогда как хлоромицетин вовсе не активен по отношению к этой инфекции. Сходная закономерность имеет место и при заражении мышей стрептококками. Хотя хлоромицетин хорошо действует in vitro на бактерий кокковой группы, он совершенно не эффективен in vivo при бактериальных инфекциях.

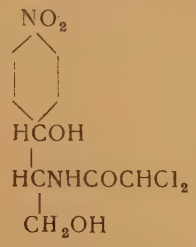
В отличие от этого, ауреомицин обладает хорошим лечебным действием не только при риккетсиозах, но также и при разнообразных бактериальных инфекциях. Ауреомицин был с успехом использован в клинике при лечении стафилококкового сепсиса, не поддающегося действию пенициллина, и имеются обнадеживающие предварительные наблюдения об использовании ауреомицина в сочетании со стрептомицином при лечении бруцеллеза.

Ауреомицин представляет собой порошок желтого цвета, который устойчив при кислой реакции (pH = 2,9) и быстро разрушается в нейтральной и слабощелочной среде. Для подавления роста бактерий в питательном бульоне достаточно 2—10 γ солянокислой соли ауреомицина в 1 мл питательной среды. Ауреомицин обладает некоторыми побочными фармакологическими действиями (понижение кровяного давления, у некоторых больных рвота и поносы), но тем не менее в соответствующих дозировках он находит клиническое применение [24, 27]. При использовании в клинике ауреомицин принимают небольшими дозами, по 100—200 мг, через каждые два-три часа. Длительность лечения обычно не превышает 2—4 дней. Химический облик молекулы ауреомицина недо-

статочно описан. Известно только, что молекула ауреомицина содержит C, H, N, O и неионный хлор. Молекулярный вес ауреомицина равен 508.

Значительно подробнее описана химическая природа хлоромицетина. Этот антибиотик представляет собой нейтральное тело, которое легко извлекается из культуральной жидкости органическими растворителями (этил-ацетатом или эфиром), независимо от реакции среды, и в дальнейшем легко кристаллизуется из органических растворителей [32].

Молекулярный вес хлоромицетина равен 310, он содержит неионный хлор, его эмпирическая формула $C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$. В химическом отношении хлоромицетин представляет собой дихлороацетамидо-нитрофенилпропанодиол со следующей структурной формулой:



Эта формула была подтверждена синтезом, причем получение синтетического хлоромицетина является значительно более дешевым и удобным методом, чем изготовление его путем ферментации лучистого грибка. Интересно отметить, что образуемый грибком хлоромицетин обладает оптически извращенной *d*-конфигурацией, если сравнить его, например, с природным *l*-эфедрином или *l*-аланином. При синтезе был получен рацемический хлоромицетин, который в дальнейшем удалось разложить на оптически активные изомеры. Оказалось, что антибиотическое действие *d*-изомера полностью соответствует активности природного антибиотика, тогда как *l*-изомер совершенно лишен антибиотических свойств. Эти наблюдения показывают, что оптическая инверсия наблюдается не только в молекуле пенициллина, стрептомицина и грамицидина, а повидимому, широко распространена среди других антибиотиков и имеет самое непосредственное отношение к механизму антибиотического действия. Благодаря оптической инверсии, молекулы антибиотиков чужды левовращающему белку, и это обеспечивает им избирательное подавление некоторых ферментативных процессов у микроорганизмов (Гаузе [5]).

7. Новые области применения советского грамицидина

Механизм действия грамицидина С на различных бактерий в последнее время был изучен в ряде работ [2, 10, 11]. Новые клинические работы советских исследователей наметили новые области применения советского грамицидина в клинической практике. Наибольший интерес представляет эффективное использование грамицидина при лечении бациллярной и амебной дизентерии. Впервые грамицидин был использован в этой области Балдиной и Козловым [1] в клинике проф. Тареева.

Опыт лечения бациллярной дизентерии сульфамидными препаратами показывает, что процесс анатомического выздоровления — заживление дизентерийных язв в кишечнике — значительно отстает по времени от исчезновения основных симптомов болезни, клинического выздоровления. Клиническое выздоровление при сульфамидной терапии наступает в среднем к 3—4-му дню от начала лечения, в то время как заживление язв на слизистой кишечника наступает значительно позже, в среднем через 3 недели от начала лечения. Переход болезни в затяжное и хроническое течение, повидимому, связан с наличием длительно незаживающих язв на слизистой кишечника.

Если первой задаче — прекращению клинических симптомов дизентерии — сульфамиды вполне удовлетворяют, то на заживление язв они действует слабо. В связи с этим поиски средств, ускоряющих заживление язв в кишечнике, имеют важное значение с точки зрения предотвращения перехода дизентерии из острого заболевания в хроническое.

Грамицидин С обладает сильным бактерицидным действием на дизентерийных палочек и грамположительных микробов. При лечении дизентерии были использованы водные растворы грамицидина в виде клизм в сочетании с сульфамидной терапией.

Наблюдения Балдиной и Козлова [1] показали, что у леченных грамицидином больных все основные болезненные симптомы дизентерии исчезают в два раза быстрее, чем у больных контрольной группы, леченных одними сульфонамидами. При лечении грамицидином сокращается процесс клинического выздоровления, а также ускоряется заживление язв в кишечнике, которое отмечается уже в ближайшие дни от начала лечения.

В последние годы советскими учеными-медиками было внесено много нового и оригинального в методику использования советского грамицидина в клинической практике. При некоторых нагноительных процессах использование грамицидина дало даже лучшие результаты по сравнению с пенициллином. Этот опыт был недавно обобщен в интересной монографии Кузменко «Грамицидин в хирургической практике» [12]

Лаборатория антибиотиков
Академии медицинских наук СССР
Москва

Получено 5.V.1949

ЛИТЕРАТУРА

1. Балдина А. И. и Козлов И. А. Опыт применения грамицидина в сочетании с сульфонамидными препаратами при лечении бациллярной дизентерии. Советская медицина, **4**, 23, 1948.
2. Бражникова М. Г. Влияние грамицидина С на дыхание золотистого стафилококка и кишечной палочки. ДАН СССР, **59**, 1349, 1948.
3. Визирь П. Комбинированное действие пенициллина и бактериофага на стафилококков. Журн. микроб., эпидем. и иммунобиол. **11**, 69, 1948.
4. Гаврилов Н. И. и Зелинский Н. Д. Современное состояние вопроса о циклической природе связей аминокислот в молекуле белка. Вестник Московск. университета, № 7, 1947.
5. Гаузе Г. Ф. Антибиотики и оптическая активность. Успехи соврем. биологии, 23, 405, 1947.
6. Гаузе Г. Ф. Лекции по антибиотикам. Изд-во Акад. мед. наук СССР, Москва, 1949.
7. Гусельникова Е. И. Быстрые методы определения чувствительности микробов к пенициллину. Журн. микроб.. эпидем. и иммунобиол., **11**, 23, 1948.
8. Ермольева З. В. и Равич Б. В. Возможность образования пенициллиназы в организме при туберкулезной инфекции. Журн. микроб., эпидем. и иммунобиол., 4, 31, 1949.
9. Захарьевский М. Изменение редоксипотенциала культуры стафилококка в процессе пенициллинового бактериостаза. Журн. микроб., эпидем. и иммунобиол., **11**, 29, 1948.
10. Знаменская М. П.., Агатов П. А. и Белозерский А. Н. О биологически активной группе грамицидина С. ДАН СССР, **59**, 95, 1948.
11. Крупин Н. В. Влияние грамицидина С на дыхание бактерий, Микробиология, XVII, 371, 1948.
12. Кузменко Л. Н. Грамицидин в хирургической практике. Киев, 1949 (Библиотека практического врача).
13. Левицкая Г. В. К вопросу о влиянии пенициллина на микробные ассоциации. Журн. микроб., эпидем. и иммунобиол., **11**, 26, 1948.
14. Мартинсон Х. и др. Течение туберкулезного менингита у детей, леченных стрептомицином. Педиатрия, **5**, 49, 1948.
15. Минервин С. и др. О возможном образовании в организме пенициллина. Журн. микроб., эпидем. и иммунобиол., **11**, 24, 1948.
16. Михельсон Р. Действие стрептомицина на брюшнотифозный бактериофаг. Журн. микроб., эпидем. и иммунобиол., **11**, 36, 1948.

17. Павлов П. и др. Действие стрептомицина на палочку коклюша в эксперименте. Журн. микроб., эпидем. и иммунобиол., **11**, 32, 1948.
18. Рогинская Ц. З. и Любимов В. И. Литические явления в культурах Actinomyces griseus. Микробиология, XVIII, 100, 1949.
19. Хинчук А. Изменение свойств гемолитического стрептококка под влиянием пенициллина. Журн. микроб., эпидем. и иммунобиол., **11**, 14, 1948.
20. Чейн Е. Химическая структура пенициллина. Успехи химии, **18**, 23, 1949.
21. Шевякова О. Действие антибиотиков на стафилококков. Журн. микроб., эпидем. и иммунобиол., **11**, 39, 1948.
22. Berber S. *et al.* Borrelidin, a new antibiotic with anti-borrelia activity and penicillin enhancement properties. Arch. Biochem., **22**, 476, 1949.
23. Brownlee G. and Jones T. The polymyxins. Biochem. J., **43**, 1948.
24. Duggar B. *et al.* Aureomycin — a new antibiotic. Ann. New York Acad. Sci., **51**, 1948.
25. Eagle H. and Musselman A. The rate of bactericidal action of penicillin in vitro. J. Exp. Med., **88**, 99, 1948.
26. Edison A. *et al.* An experimental evaluation of dihydrostreptomycin. Amer. Rev. Tuberc., **58**, 487, 1948.
27. Finland M. *et al.* Present states of aureomycin therapy. Ann. Intern. Medic., **31**, 39, 1949.
28. George M. and Pandalai K. Sensitization of penicillin-resistant pathogens. Lancet, **256**, 955, 1949.
29. O'Keeffe *et al.* Separation of streptomycins. J. Amer. Chem. Soc., **71**, 2452, 1949.
30. Peck R. *et al.* Isolation of neomycin A. J. Amer. Chem. Soc., **71**, 2590, 1949.
31. Plattner P. und Nager U. Über die Konstitution von Enniatin. Helv. Chim. Acta, **31**, 2192, 1948.
32. Rebstock M. et al. Chloromycetin. J. Amer. Chem. Soc., **71**, 2458, 1949.
33. Skinsnes O. and Woolridge O. Penicillin and immune response. J. Infect. Dis., **83**, 78, 1948.

РЕФЕРАТЫ

ОБЩАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ: МОРФОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ, БИОХИМИЯ

Пуķко А. Ю. **Характеристика выделенных ЛССР штаммов Penicillium. Влияние различной световой радиации на выработку пенициллина.** Изв. АН Латв. ССР, № 5 (22), стр. 93—104. 1949 г.

Изучение способности пенициллинообразования у природных (диких) форм гриба показало, что активные формы в природе встречаются редко.

Как указывает в своей статье автор, из семидесяти четырех представителей Penicillium, выделенных из почв Латвии, только восемь оказались активными в пределах от 2 до 320 единиц. Наиболее активный штамм, давший при поверхностном методе культивирования 320 ед. (при глубинном штамм дает только 160 ед.), обладал способностью наряду с обычными микроорганизмами угнетать еще Bact. prodigiosum и Sarcina subflava.

Исследуя условия повышения активности у диких форм Penicillium, автор обнаружил, что использование видимых световых лучей различной длины волны (от 500 до 740 mμ) приводит к изменению степени активности у грибов.

На основании экспериментальных данных было установлено, что красный, оранжевый и дневной свет угнетают пенициллинообразование, тогда как синий и зеленый усиливают выработку пенициллина в 1,5—2 раза.

А. Фатеев

Schultz A., McManus D., Pomper S. **Aminoacids as carbon source for the growth of yeasts. (Аминокислоты как источник углерода для роста дрожжей).** Arch. of Biochem., v. 22, No. 3, pp. 412—419, 1949.

Изучалась возможность развития дрожжей за счет углерода аминокислот. Было использовано 8 различных аминокислот. Опыты велись на среде, не содержащей иных органических веществ, кроме исследуемых аминокислот, а также с добавлением 0,1% глюкозы, так как глюкоза во многих случаях дает необходимый толчок для начала развития за счет аминокислот. Для каждого вида дрожжей добавлялись необходимые им витамины.

S. cerevisia не использует аминокислот. T. cremoris использует только глютаминовую кислоту. Zygosacch. marxianus и Mycoderma — глютаминовую, пролин и аланин. T. pulcherrima, T. utilis, S. pastorianus и Candida guillermondia используют почти все испытанные аминокислоты как с сахаром, так и без сахара.

И. Работнова

Stokes S. L. **Fermentation of glucose by suspension of Escherichia coli. (Сбраживание глюкозы суспензией E. coli).** J. Bact., v. 57, No. 2, pp. 147—158, 1949.

Исследовались продукты брожения отмытой суспензии E. coli в аппарате типа Варбурга в анаэробных условиях. Найдено, что из молекулы глюкозы образуется 0,8 молей спирта, 0,8 — уксусной кислоты, 1,2 — муравьиной кислоты, 0,2 — молочной и 0,4 мол. янтарной. Янтарная кислота, повидимому, образуется путем конденсации трехуглеродных соединений с муравьиной кислотой.

pH очень резко влияет на соотношение продуктов брожения. При pH = 5,6 образуется больше молочной кислоты и меньше спирта, чем при pH = 7,0—7,9. Янтарная кислота в большем количестве образуется при нейтральном и щелочном pH чем при pH = 5,6.

И. Работнова

Hoff. Jorgensen E. **Difference in growth-promoting effect of desoxyribosides and vitamin B on three strains of lactic acid bacteria. (Различие между дезоксирибозидами и витамином B_{12} в способности увеличивать рост трех штаммов молочнокислых бактерий).** J. Biol. Chem., v. 178, No. 1, pp. 525—526, 1949.

Согласно новым данным, тимидин является ростовым фактором для некоторых молочнокислых бактерий. Для Lactobacillus casei он может заменять витамин B_{12}.

Автор в своем кратком сообщении говорит об обнаружении в процессе изучения рода Thermobacterium штамма Thermobact. acidophilus R = 26, потребность которого в гимидине не может быть возмещена концентратами витамина B_{12} или продажными

препаратами печени. Для другого штамма Thermobacterium lactis 1 потребность в витамине B_{12} или тимидине можно удовлетворить триптическим гидролизатом казеина, обработанным древесным углем. Третий штамм Thermobacterium juhurt 13 растет в присутствии или тимидина, или витамина B_{12}, но не реагирует на казеиновый гидролизат. Гуаниндезоксирибозид дает тот же эффект в отношении всех трех штаммов.

Е. Грищенко и Т. Борисова

Dunn M. S., McClure L. and Merrifield R. B. **The determination of proline in protein hydrolysates with Lactobacillus brevis (Определение пролина в белковых гидролизатах при помощи Lactobacillus brevis).** J. Biol. Chem. v. 179, No 1, pp. 11—18, 1949.

Авторы коротко обсуждают все ранее предложенные способы определения пролина, после чего дают описание собственного метода, в котором в качестве тест-организма используется Lactobacillus brevis.

Основная среда содержит в 1 л: 0,92 г *dl*-аланина, 0,52 г *l*-аргинина, 1,44 г природного аспарагина · H_2O, 0,60 г *l*-цистеина HCl, 1,48 г *l*-глютаминовой кислоты, 0,26 г гликокола, 0,26 г *l*-гистидина · HCl · H_2O, 0,96 г *dl*-изолейцина, 0,56 г *l*-лейцина, 2,68 г *dl*-лизина · HCl, 0,36 г *dl*-метионина, 0,40 г *dl*-норлейцина, 0,40 г *dl*-норвалина, 0,56 *dl*-фенилаланина, 0,50 г *dl*-серина, 1,38 г *dl*-треонина, 0,16 г *dl*-триптофана, 0,48 г *l*-тирозина, 1,88 *dl*-валина, 45 г уксуснокислого натрия, 0,3 г K_2HPO_4, 0,3 г KH_2PO_4, 0,12 г $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0,006 г $FeSO_4 \cdot 7H_2O$, 0,006 г $MnSO_4 \cdot 4H_2O$, 9 мг никотинамида, 1,5 γ *p*-аминобензойной кислоты, 1,5 γ биотина, 900 γ кальциевой соли пантотеновой кислоты, 120 γ холина · HCl, 20 γ фолевой кислоты, по 120 γ инозитола, пиридоксаля · HCl, пиридоксамина · 2HCl пиридоксина · HCl, рибофлавина и тиаминхлорида · HCl и по 30 мг аденина, гуанина, тимина, урацила, гипоксантина и ксантина. Источником энергии служит арабиноза (45 г) и безводная *d*-глюкоза (7,5 г). Все растворы — стандартные и анализируемые — доводятся до pH = 6,8 и 3 мл объема и стерилизуются паром при 100° в течение 20 минут. Зараженные пробирки (0,1 мл клеточной суспензии) инкубируются 72 часа при 34°, после чего раствор титруют 0,03 *M* NaOH. Удовлетворительные результаты получаются при содержании в пробе от 6 до 42 γ пролина.

В казеине было определено 10,5% пролина, в фиброине шелка — 0,57%.

Е. Грищенко и Т. Борисова

Holden J. T., Furman C. a. Snell E. E. **The vitamin B group XVI. d-alanin and the vitamin B_6 content of microorganisms. (Группа витамина B_6. XVI. Содержание d-аланина и витамина B_6 в микроорганизмах).** J. Biol. Chem., v. 178, No 2, pp. 789—797, 1949.

Витамин B_6, необходимый для роста Streptococcus faecalis RU Lactobacillus casei, может быть с успехом заменен *d*-аланином. Согласно некоторым высказываниям *d*-аланин является исходным материалом для синтеза витамина B_6. Однако отсутствие заметных количеств кодекарбоксилазы и котрансаминазы в случае замены витамина B_6 на *dl*-аланин заставляет усумниться в правильности подобной точки зрения.

Авторы выполнили ряд прямых определений содержания витамина B_6 в нескольких микроорганизмах, развивавшихся в присутствии или отсутствии *d*-аланина и витамина B_6.

Оказалось, что молочнокислые бактерии, нуждающиеся в витамине B_6, хорошо росли и в его отсутствии при добавлении *d*-аланина. При этом, однако, содержание в них витамина B_6 было крайне мало — и во всяком случае далеким от необходимого минимума. Escherichia coli и Aspergillus niger способны развиваться за счет самостоятельно синтезируемого витамина B_6, содержание которого не увеличивается при добавлении *d*-аланина.

Все это, по мнению авторов, говорит против представления о *d*-аланине, как о предшественнике витамина B_6.

Saccharomyces carlsbergensis, способный синтезировать некоторое количество витамина B_6 при нехватке его в среде, содержал наибольшее его количество при избытке в среде пиридоксина, несколько меньше — при избытке пиридоксаля и меньше всего при избытке пиридоксамина.

Авторы в итоге приходят к убеждению, что *d*-аланин является незаменимой для некоторых микроорганизмов аминокислотой, в синтезе которой в случае ее отсутствия принимает участие витамин B_6. Эту свою гипотезу они надеются доказать последующими работами.

Е. Грищенко

Schmidt G., Hecht L. and Thannhauser S. J. **The effect of potassium ions on the absorption of orthophosphate and the formation of metaphosphate by baker's yeast. (Влияние ионов калия на всасывание ортофосфатов и образование метафосфатов у пекарских дрожжей).** J. Biol. Chem., v. 178, No. 2, pp. 733—742, 1949.

Дрожжи и плесени (например, Aspergillus) способны при некоторых условиях превращать усвояемый ортофосфат в метафосфат. Была установлена зависимость этого процесса от присутствия солей калия. Реферируемая работа посвящена обстоятельному изучению данного вопроса на пекарских дрожжах. Авторы нашли, что усвоение ортофосфата и образование метафосфата сопровождаются перемещением из среды в клетку катионов в количестве, достаточном для нейтрализации накопившихся фосфатных радикалов. Из среды, содержавшей 55,5 mM глюкозы, 100 mM $Na\ H_2PO_4$, 39,2 mM $(NH_4)_2\ SO_4$, 9,4 mM KCl и 2,9 mM $MgSO_4$, в клетку проникали преимущественно ионы калия (0,316 mM K^+ и 0 mM Na^+ на грамм влажных дрожжей). Исключение из среды магния приводило к тому, что дрожжевые клетки начинали отдавать предпочтение натрию (0,140 mM K^+ и 0,336 mM Na^+). Присутствие ионов калия в среде (0,01 M) оказывало стимулирующее влияние на усвоение ортофосфата, не зависящее от накопления их в клетках.

Авторы не в состоянии пока решить, способствует ли калий вхождению ионов ортофосфата в клетки или же его влияние направлено на энзиматическое преобразование ортофосфата в метафосфат.

Е. Грищенко

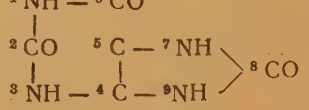
Karlsson J. L. and Barker H. A. **Tracer experiments on the mechanism of uric-acid decomposition and acetic acid synthesis by Clostridium acidi-urici. (Опыты с мечеными атомами по механизму разложения мочевой кислоты и синтезу уксусной кислоты Clostridium acidi-urici).** J. Biol. Chem., v. 178, No. 2, pp. 891—902, 1949.

Авторы изучали превращение пуринов у Clostridium acidi-urici.

В качестве субстратов были использованы мочевая кислота, гликокол и CO_2, меченые C^{14}. Положение радиоактивного углерода в указанных соединениях менялось от опыта к опыту.

Суммарная реакция, как это следует из прежних работ, выражается уравнением: мочевая кислота $+ 5{,}5\ H_2O = 4NH_3 + 0{,}75\ CH_3COOH + 3{,}5\ CO_2$. Результаты работы таковы.

Если инкубирование мочевой кислоты производится в присутствии избытка гликокола и бикарбоната, α-углерод образовавшейся уксусной кислоты поставляется за счет атомов углерода мочевой кислоты, находившихся в положении 2,5 и 8 (см. формулу) α — углерода гликокола и углерода CO_2.



а углерод карбоксила — в основном, за счет двух последних источников и углерода 5 мочевой кислоты. Образующаяся в процессе инкубирования углекислота имеет главным своим источником углеродные атомы 2, 4 и 8 мочевой кислоты и в меньшей степени атом 6 и углерод карбоксильной группы гликокола.

Возможности Clostridium acidi-urici не идут далее использования мочевой кислоты, ксантина, гуанина, гипоксантина и гликокола. 5-амино-4-имидазолкарбоксамид, 2,4,5-триамино-6-оксипиримидин, глютаминовая кислота и ряд других опробованных соединений не разлагались.

Т. Борисова и Е. Грищенко

КРИТИКА И БИБЛИОГРАФИЯ

Г. М. Вайндрах и О. М. Княжанский, **Д. И. Ивановский и открытие вирусов.** 1948. стр. 52. Центральный институт санитарного просвещения.

Центральным институтом санитарного просвещения выпущена брошюра об основоположнике учения о фильтрующихся вирусах — Дмитрие Ивановиче Ивановском. Благородная и весьма ответственная задача — донести до широких народных масс незабвенные имена, историю жизни и творчества великих ученых русского народа.

Следует отметить, что даже в Большой советской энциклопедии не нашлось места, чтобы отметить ведущие, всеми признанные открытия, сделанные Ивановским в области фильтрующихся вирусов. Только в 1942 г. в связи с 50-летием опубликования замечательных исследований Д. И. Ивановского в журнале «Микробиология» в ряде статей была, до некоторой степени, отмечена его роль и значение в развитии учения о вирусах.

В рецензируемой брошюре авторы делают попытку восполнить этот пробел. Но, к сожалению, вместо того, чтобы как можно шире и глубже охватить многогранную деятельность Д. И. Ивановского в области вирусологии, микробиологии, физиологии, биохимии, как создателя учебника по физиологии растений, авторы первые 10 страниц заполняют скучным материалом, к тому же требующим значительной редакции, об ...Левенгуке, Дженнере, Пастере, Линнее, Либермейстере и т. д. Далее следуют только 20 страниц об Ивановском и затем 20 страниц в большинстве случаев поверхностных рассуждений о природе и о различных свойствах вирусов. Трудно понять, на какого читателя рассчитана эта брошюра. Если это популярный рассказ для широкого круга читателей, то зачем же загромождать текст пространными описаниями различных типов бактериальных фильтров, туманными рассуждениями о строении атомов, о технике культивирования тканей, о приготовлении питательных сред и т. д. Более подготовленного читателя также не может удовлетворить беглое описание многочисленных специальных вопросов, не связанных непосредственно с основной темой.

Следует также отметить, что в небольшой брошюре допущено немало неточностей. Так, например, авторы пишут, что рябуха табака «вызывается определенными условиями произрастания табака». На самом деле Ивановский совместно с Половцевым нашел грибок, вызывающий эту болезнь. Мозаичное заболевание табака авторы рецензируемой работы почему-то называют желтухой. Неверно их утверждение, что рекомендованные в 1892 г. меры борьбы против вируса мозаики табака решили задачу «спасения» табачных плантаций от этого заболевания. Неверно также их утверждение, будто вирусом мозаики табака поражаются только табаки. Этому заболеванию подвержены томаты, перец, баклажаны и многие другие культуры. На стр. 21 брошюры мы читаем: «Эти опыты (речь идет об опытах Ивановского.— *М. Г.*), многократно повторенные, говорят против предположения, что мозаика вызывается ядом каких-то бактерий». А на стр. 23 авторы пишут: «Ивановский снова берется за исследование. Ему предстоит дать точный ответ на поставленный вопрос: сам ли возбудитель остался в жидкости, профильтрованной через свечу Шамберлана, или же там есть только яд, выделяемый неуловимым микробом». На стр. 18 у Вайндраха и Княжанского получается, что бледные пятна на листьях изменили цвет и форму листа. «Затем поражая растения все больше и больше делали их непригодными для обработки». Это утверждение также не соответствует действительности. Мозаичные табаки не являются «непригодными для обработки», в противном случае это было бы катастрофой для табачной промышленности.

Брошюра недоработана в литературном отношении. Так, например, авторы пишут: ...«Она (имеется в виду наука о микробах — микробиология.— *М. Г.*) не имела даже своего имени». «Этот мир стал доступен человеческому зрению». «Самый малый из известных вирусов...», «подобно тому, как худого человека можно показать толстым, надев на него несколько одежд. То же сделал Морозов и с возбудителем оспы: наложил на него различные вещества...» «И вот ученые направили усилия на то, чтобы применить такие лучи, длина волны которых была бы меньше самого малого вируса». «Весь же атом представляется совершенно нейтральным», и т. д.

Д. И. Ивановскому принадлежит не только выдающееся открытие фильтруемости заразного начала через бактериальные фильтры, им также проведены фундаментальные исследования в области эпифитологии и в особенности цитологии вирусных заболеваний растений. Он обнаружил и подробно описал особые включения в расти-

тельной клетке. Включения Ивановского, как это было выяснено советскими исследователями, являются отложениями вируса. Эти данные послужили истоком для большого количества исследований по вирусам. Буквально каждая третья работа по вирусным заболеваниям растений начинается ссылкой на это открытие русского ученого.

В брошюре же Вайндраха и Княжанского этот факт изображен неудачно. «Ивановский, пишут они,— не только подметил эти включения, но их зарисовал. Его рисунками ученые пользуются до сих пор. Известный американский исследователь табака Луи Кункель напечатал их в своем труде о мозаике табака». Неизвестно, зачем понадобилось авторам брошюры замечательное исследование Д. И. Ивановского подкреплять авторитетом Кункеля. Задача этой брошюры является показать значение трудов Ивановского — пионера в области фильтрующихся вирусов, тем более досадны эти срывы. Весьма ценен предоставленный в кратком виде архивный материал, выдержки из дневника Дмитрия Ивановича, фактические данные о его опытах. Этот раздел обработан более удачно. Но, к сожалению, и здесь мы не находим хотя бы краткого разбора многогранной плодотворной научной деятельности ученого. В то же время экспериментальные и теоретические работы Ивановского характеризуют его как исследователя с широким кругозором, смелого экспериментатора, способного ломать плохие традиции. И в этом смысле весьма интересна работа Ивановского, опубликованная в 1908 г. «Экспериментальный метод в вопросах эволюции». Мы с удовлетворением отмечаем в этой работе идеи, созвучные мичуринской творческой биологии. «...Теория Дарвина,— пишет Ивановский,— была лишь предварительной схемой эволюционной теории...» Ивановский не только понимал незавершенность теории Дарвина, но и констатировал «застой, в котором пребывала эта теория», застой, который поддерживался как явными противниками дарвинизма, так и всякого рода неодарвинистами. «По непонятному недоразумению, продолжающемуся до самого последнего времени,— пишет Д. И. Ивановский,— дарвинисты пришли к заключению, что исследования факторов органической эволюции не имеют прямого отношения к защищаемой ими теории... и потому не удивительно, что несмотря на огромную т. наз. дарвиновскую литературу вся теория до сих пор осталась в своем первоначальном незаконченном виде... Не таким дарвинистом был сам Дарвин». Ивановский занимал передовые позиции также и по вопросу о влиянии внешней среды на видообразование. «Постоянство видовых признаков,— писал он,— есть, следовательно, только наша абстракция; оно осуществляется только при некоторых условиях...» И далее: «Я считаю поэтому большой ошибкой, что биологи, даже приверженцы дарвинизма, поспешили уже признать флюктуирующую изменчивость (индивидуальное различие) лишенной эволюционного значения. Этим самым они лишили такого значения и определенное влияние среды, к чему у них, во всяком случае, нет данных». Таковы ясные и вполне определенные высказывания крупнейшего русского ученого. Можно ли их обойти в биографическом очерке, посвященном научной деятельности основателя вирусного дела — Дмитрия Ивановича Ивановского?

Необходимо шире показать творчество выдающегося русского ученого, ознакомить читателя с его передовыми эволюционными идеями.

М. Гольдин

СОДЕРЖАНИЕ

Стр.

Советская микробиология в годы сталинских пятилеток 3

Е. Н. Мишустин. Учение Докучаева — Костычева — Вильямса о почве и вопрос о составе микроорганизмов в растительных формациях 11

И. Л. Работнова и И. В Конова. Влияние степени аэрации на автотрофное и гетеротрофное питание Chlorella 24

Л. Д. Штурм. Микроскопическое исследование нефтеносных пластовых вод 32

А. Г. Родина. Распределение дрожжевых и дрожжеподобных грибков в озерах 44

В. И. Любимов. Окислительно-восстановительный потенциал в культурах уксуснокислых бактерий 53

Д. Н. Климовский и В. И. Родзевич. Амилолитические ферменты у аспергиллов 60

Г. И. Журавский. Влияние свободной лимонной кислоты на процесс кислотообразования у гриба Aspergillus niger 65

Г. Ф. Гаузе. Новые данные в изучении антибиотиков (Обзор) 79

Рефераты 92

Критика и библиография 95

Т-00819 Подписано к печати 1. II. 1950 г. Печ. л. 6 + 2 вклейки

Уч.-изд. л. 9,2 Тираж 4800 экз. Заказ 2704

2-я типография Издательства Академии Наук СССР. Москва, Шубинский пер., д. 10

Цена 9 руб.